

Pflanzenschutz durch Reste aus der Insektenproduktion (Frass) gegen bodenbürtige Pilzpathogene



Masterarbeit

von

Jovan Panov

Masterstudiengang 2019

Abgabedatum 12.02.2021

Studienrichtung Umwelt und Natürliche Ressourcen

Fachkorrektoren:

Prof. Dr. Jürg Grunder

ZHAW 8820 Wädenswil

Dr. Esther Fischer

ZHAW 8820 Wädenswil

Impressum

Schlüsselworte:

Frass

Food from Wood (FfW)

Hermetia illucens, Schwarze Soldatenfliege

Tenebrio molitor, Mehlwurm

Trypoxylus dichotomus, Hirschkäfer

Chitin, Chitinase

Topfsubstrat

Lactuca sativa var. *capitata*, Kopfsalat

Lepidium sativum, Gartenkresse

Pythium ultimum

Rhizoctonia solani

Verticillium dahliae

Autor:

Jovan Panov

Institut:

Institut für Umwelt und Natürliche Ressourcen

ZHAW, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften

Departement Life Sciences und Facility Management

Grüental, Postfach

CH-8820 Wädenswil

Danksagung:

Für die Zusammenarbeit und Unterstützung bei der Realisierung dieser Arbeit bedanke ich mich bei Jürg Grunder, Ursula Löffel und Esther Fischer.

Zusammenfassung

Durch den wachsenden Bedarf an hochwertigem und umweltfreundlich produziertem Protein nimmt die Insektenproduktion auch in Europa zu. Dadurch werden vermehrt Produktionsreste bestehend aus Insektenexkrementen (Frass), Insektenhäuten (Chitin) und Futterresten anfallen. Der Verwertung von diesem Abfallstoff als Düngemittel oder Substratzusatz wird deshalb grosses Interesse geschenkt. Die potentielle Wirkung gegen Pflanzenpathogene ist durch den Chitingehalt im Frass vielversprechend. Chitin ist bekannt dafür, chitinolytische Mikroorganismen im Boden zu fördern, welche durch lytische Enzyme wie Chitinase chitinhaltige pflanzenparasitische Pilze oder Nematoden bekämpfen.

In dieser Arbeit wurde der Frass von drei Insektenarten zur Eignung als Substratzusatz sowie auf die Wirkung gegen bodenbürtige Pilzpathogene getestet. In einem ersten Kresstest (*Lepidium sativum*) wurde die Wirkung von 10% und 20% Frass von *Trypoxylus dichotomus* in Substrat gegen *Pythium ultimum* untersucht. Im zweiten Kresstest wurde der Einfluss der Mikroorganismen durch Sterilisation und Inkubation des Frass-Substrat-Gemisches und in einem dritten Kresstest zusätzlich die Wirkung von *Tenebrio molitor* und *Hermetia illucens* gegen *P. ultimum* geprüft. In einem Topfversuch wurde die Wirkung des Frasses von *Trypoxylus dichotomus* und *Tenebrio molitor* an Kopfsalat (*Lactuca sativa* var. *capitata*) gegen *Rhizoctonia solani* und *Verticillium dahliae* getestet. Während der Versuchsdauer wurden die Chitinaseaktivität und die Anzahl an chitinolytischen Bakterien im Substrat ermittelt.

In den ersten beiden Kresstests konnte der Frass von *Trypoxylus dichotomus* den Befall durch *P. ultimum* signifikant unterdrücken. Die Inkubation des Substrats verschlechterte die Wirkung und die Sterilisation hatte einen kompletten Befall zur Folge. Im dritten Kresstest und im Topfversuch haben die Pilze eine zu geringe Infektiosität aufgewiesen, wodurch keine Krankheitssymptome ausgewertet werden konnten. Die Negativkontrolle wies das stärkste Wachstum im Topfversuch auf. 20% Frass von *Trypoxylus dichotomus* bewirkte anfänglich ein verzögertes Wachstum. 20% Zugabe des Frasses von *Tenebrio molitor* bewirkte das Absterben der Pflanzen, jedoch konnten im Substrat eine signifikant höhere Chitinaseaktivität und grössere Anzahl an chitinolytischen Bakterien im Substrat beobachtet werden.

Die unterschiedlichen Nährstoffgehalte im Frass der verschiedenen Insektenarten und deren differente Produktionsbedingungen erschweren eine allgemeine Empfehlung zur Anwendung von Frass. Für eine Wirkung gegen Pflanzenpathogene muss die Menge an zugesetztem Frass so angepasst sein, dass genügend nützliche Mikroorganismen wie chitinolytische Bakterien gefördert werden und das Pflanzenwachstum nicht beeinträchtigt wird.

Abstract

The mass rearing of insects in Europe is increasing due to the rising demand for high quality and environmentally friendly protein. The accumulating residues, as a mixture of insect excrements (frass), exuvie (chitin) and feeding substrate, can potentially be used as a fertilizer or as a potting substrate amendment. Plant protection against soilborne pathogens can be a promising application of frass, because of the Chitin content. Chitin is known to promote chitinolytic microorganisms in soil and induces the activity of Chitinase, which is a lytic enzyme, that degrades the cell walls of plant parasitic fungi and the egg shells of nematodes.

In this thesis, the frass of three different insect species have been analysed for application as a substrate amendment and for the suppression of soilborne fungal pathogens. Frass of *Trypoxylus dichotomus*, *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* have been tested for suppression against *Pythium ultimum* on garden cress (*Lepidium sativum*). The impact of incubation and sterilisation of the substrat-frass mixture of *Trypoxylus dichotomus* against *P. ultimum* has been tested as well. In a pot experiment frass of *Trypoxylus dichotomus* und *Tenebrio molitor* have been evaluated for the suppression of *Rhizoctonia solani* and *Verticillium dahliae* on lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata). Measurements of chitinase-activity and the CFU of chitinolytic bacteria in the soil have been made throughout the experiment.

The concentration of 10% and 20% Frass of *Trypoxylus dichotomus* in potting substrate was able to suppress *P. ultimum* significantly. Incubation of the substrate resulted in less suppression and sterilisation resulted in total infection of the plants. In the third experiment on cress and in the potting experiment no symptoms of disease could be evaluated, due to low infectiousness of the inoculated pathogens. Highest growing rates of lettuce was observed without frass. 20% of frass from *Tenebrio molitor* resulted in death of the plants but had a significant enhancement effect on chitinase-activity and on CFU of chitinolytic bacteria.

Frass of different insect species and production sites show different nutrient contents and chemical properties, which make a general recommendation for the application of frass difficult. On the one hand enough frass has to be applied to support beneficial microorganisms for the suppression of plant pathogens and on the other hand the amount has to be limited for the prevention of phytotoxicity.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	8
2	Literatur	10
2.1	Frass – Abfallprodukt aus der Insektenproduktion.....	10
2.1.1	Chemische und mikrobiotische Eigenschaften von Frass.....	11
2.1.2	Verwendung als Düngemittel und Substratzusatz	12
2.1.3	Wirkung gegen Pflanzenpathogene	15
2.2	Chitin	15
2.2.1	Förderung chitinolytischer Mikroorganismen und Erhöhung der Chitinase-Aktivität im Boden.....	17
2.2.2	Chitinaseinduktion in der Pflanze	18
2.3	Bodenbürtige Pflanzenpathogene	19
2.3.1	Schwarzbeinigkeit von Keimlingen – <i>Pythium ultimum</i>	19
2.3.2	Schwarzfäule bei Salat – <i>Rhizoctonia solani</i>	19
2.3.3	Verticillium-Welke – <i>Verticillium dahliae</i>	20
3	Material und Methoden.....	22
3.1	Kressetest zur Pflanzenschutzwirkung von Kotpellets (FfW) gegen <i>Pythium ultimum</i>	22
3.1.1	Versuchsaufbau	23
3.1.2	Datenerhebung.....	24
3.2	Kressetest zum Einfluss der Mikroorganismen im Frass gegen <i>P. ultimum</i>	25
3.3	Kressetest zur Pflanzenschutzwirkung von Frass dreier Insektenarten gegen <i>P. ultimum</i>	25
3.4	Topfversuch zur Pflanzenschutzwirkung gegen <i>Rhizoctonia solani</i> und <i>Verticillium dahliae</i> bei Kopfsalat	26
3.4.1	Versuchsaufbau	27
3.5	Messung der Substrateigenschaften.....	30
3.5.1	Trockengehalt.....	30
3.5.2	pH- und EC-Wert.....	30
3.5.3	Analysen durch das Bodенlabor	31

3.6	Bestimmung der CFU von chitinolytischen Mikroorganismen	31
3.6.1	Herstellung von Chitinagar	31
3.6.2	Herstellung von kolloidalem Chitin	33
3.6.3	Kolonienzählung.....	34
3.7	Chitinase-Assay	36
3.7.1	Chitinase-Assay-Kit	36
3.7.2	Chitinase-Assay mit Dinitrosalicylsäure (DNSA)	39
3.7.3	Evaluation des Pflanzenwachstums und des Krankheitsbefalls	41
3.8	Statistik.....	41
4	Ergebnisse	43
4.1	Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Kotpellets (FfW) gegen <i>Pythium ultimum</i>	43
4.1.1	Trockengehalt der Substrate	43
4.1.2	Höhenwachstum und Überlebensrate ohne Pilz	43
4.1.3	Höhenwachstum und Überlebensrate mit Pilz	43
4.2	Kresstest zum Einfluss der Mikroorganismen im Frass gegen <i>P. ultimum</i>	45
4.2.1	Trockengehalt der Substrate	45
4.2.2	Höhenwachstum.....	45
4.2.3	Überlebensrate.....	46
4.3	Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Frass dreier Insektenarten gegen <i>P. ultimum</i>	48
4.3.1	Höhenwachstum und Krankheitsbefall	48
4.3.2	Chitinaseaktivität und chitinolytische Mikroorganismen im Substrat	48
4.4	Topfversuch.....	49
4.4.1	Chemische Eigenschaften der Substrate und des Frasses	49
4.4.2	Temperatur und Luftfeuchtigkeit	50
4.4.3	Frisch-und Trockenmasse.....	52
4.4.4	Wachstumsverlauf.....	53
4.4.5	Krankheitsbefall.....	58
4.4.6	Chitinaseaktivität gemessen mit Chitinase Assay Kit.....	58

4.4.7	Chitinaseaktivität gemessen mit Dinitrosalicylsäure (DNSA)	61
4.4.8	Kolonienanzahl chitinolytischer Mikroorganismen	62
5	Diskussion	67
5.1	Kressetests zur Wirkung gegen <i>Pythium ultimum</i>	67
5.2	Topfversuch zur Wirkung gegen <i>R. solani</i> und <i>V. dahliae</i>	68
5.2.1	Pflanzenwachstum	68
5.2.2	Krankheitsbefall	70
5.2.3	Chitinaseaktivität und chitinolytische Mikroorganismen im Substrat	71
5.3	Methoden	72
5.3.1	Chitinagar-Medium	72
5.3.2	Chitinaseaktivität	73
5.4	Schlussfolgerung	74
6	Literaturverzeichnis	77
7	Abbildungsverzeichnis.....	84
8	Tabellenverzeichnis.....	88

1 Einleitung

Insekten sind ein Teil der Ernährung von ca. zwei Milliarden Menschen und vor allem in tropischen Gegenden gelten sie als Delikatesse. In westlichen Regionen der Welt werden Insekten grösstenteils als Schädling angesehen und sind als Nahrungsmittel lediglich ein Nischenprodukt, wobei der Ekelfaktor eine grosse Hürde beim Konsum darstellt. Dabei sind Insekten reich an Proteinen, gesunden Fettsäuren und Mineralstoffen, weshalb sie sich als nahrhafte Alternative zu konventionellen Tierprodukten wie Fleisch und Fisch anbieten. Die Insektenproduktion ist bezüglich den Umweltauswirkungen durch den geringen Treibhausgasausstoss, der möglichen Verwertung von organischen Abfällen, der effizienten Futterverwertung und dem geringen Landverbrauch im Vorteil gegenüber der herkömmlichen Tierproduktion (Huis, 2013). In Europa ist die Insektenproduktion stark im Wachstum begriffen und die Bereitschaft der Bevölkerung, Insekten zu konsumieren, steigt, wobei die Insekten hauptsächlich ganz oder in Form von Riegeln, Keksen oder anderen Snacks verzehrt werden (IPIFF, 2020). Die Produktion und Kommerzialisierung von Insekten werden zunehmend von EU-Staaten autorisiert, wodurch auch ein starkes Wachstum des Sektors prognostiziert wird. Das anfallende Nebenprodukt (Frass), welches hauptsächlich aus Exkrementen und Insektenhäuten besteht, wird von einigen Produzenten bereits als Düngemittel vertrieben. Jedoch sind noch wenige Informationen zur Düngewirkung und zu den bodenverbessernden Eigenschaften von Frass bekannt (Houben et al., 2020). Im BLW-Projekt «Food from Wood» der ZHAW Wädenswil (Forschungsgruppe Phytomedizin) wird ein System zur Produktion der essbaren Insektenarten *Trypoxylus dichotomus* und *Mecynorrhina polyphemus* entwickelt. Auf Basis von holzartigen Rohstoffen wird die Proteinproduktion mit Käferpuppen als Endprodukt betrieben. Der Vorgang wird nach biologischen Richtlinien ausgerichtet, wobei die Verwertung aller Materialflüsse angestrebt wird. Der anfallende Frass in Pelletform, welcher durch die Insektenlarven mit Stickstoff angereichert wurde, könnte als Substratzusatz oder Gartenerde dienen, womit Abfälle vermieden werden.

Von verschiedenen Insektenarten konnten in der Fachliteratur bisher meist positive Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum mittels Düngung oder als Substratzusatz festgestellt werden (Bortolini et al., 2020; Choi et al., 2009; Gärttling et al., 2020; Houben et al., 2020; Kebli & Sinaj, 2017; Klammersteiner et al., 2020; Kováčik et al., 2010; Newton et al., 2005; Poveda et al., 2019; Setti et al., 2019). Die besondere Anwendung als ein Pflanzenschutzmittel gegen bodenbürtige Pilzpathogene wurde aber noch kaum in Betracht gezogen. Das Chitin, von den Larvenhäuten und Panzern der Insekten stammend, könnte eine Pflanzenschutzwirkung gegen chitinhaltige Pflanzenschädlinge in Substrat ermöglichen. Denn durch die Förderung von chitinolytische Mikroorganismen und der daraus folgenden Chitinaseproduktion werden chitinhaltige Organismen wie pflanzenpathogene Pilze und

Nematoden im Boden oder im Substrat bekämpft (De Tender et al., 2019; Ramírez et al., 2010; Sharp, 2013).

In dieser Arbeit wurde Frass der Insektenarten *Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor* und *Trypoxylus dichotomus* untersucht. Es wurden Versuche zur Pflanzenschutzwirkung in Schnelltests gegen *Pythium ultimum* an Kresse (*Lepidium sativum*) und in einem Topfversuch mit *V. dahliae* und *R. solani* an Kopfsalat (*Lactuca sativa* var. *capitata*) durchgeführt. Im Substrat mit Frass wurden eine höhere Chitinaseaktivität und eine höhere Anzahl chitinolytischer Mikroorganismen erwartet, wodurch die Pflanzen vor einer Infektion geschützt werden. Ausserdem wurde die Chitinaseinduktion bei den Pflanzen durch den Frass vermutet.

2 Literatur

2.1 Frass – Abfallprodukt aus der Insektenproduktion

Als Frass werden nach Definition des Oxford Dictionary die Exkremente von bohrenden Insekten bezeichnet. Der Begriff wurde ursprünglich vom Lepidopterologen H.F. Stainton im Jahr 1854 verwendet zur Beschreibung von angefressenen Blättern mit Kotresten verursacht durch Insektenlarven. Dabei übernahm er die Bezeichnung für das Schadbild aus dem deutschen Wortstamm für «fressen». Der Begriff hat sich als wissenschaftliche Bezeichnung für die Exkremente von Insekten etabliert (Berenbaum, 2003).

Der Frass aus der Insektenproduktion besteht hauptsächlich aus Exkrementen, kann aber auch Chitin von Insektenpanzern oder Futterreste beinhalten. Frass wurde bisher meist als Abfallstoff angesehen und der Verwertung in Produktionssystemen wie der Landwirtschaft oder Hortikultur wurde wenig Aufmerksamkeit geschenkt (Kebli & Sinaj, 2017; Ortiz et al., 2016). Bei Frass wird kein unangenehmer Geruch festgestellt und die Geruchsemissionen ausgehend von Mist können durch die Insektenverarbeitung bedeutend reduziert werden (Bortolini et al., 2020; Newton et al., 2005).

Die Umwelteinflüsse kommen in vielen Bereichen der konventionellen Kompostproduktion gleich, doch im Vergleich zur Anwendung und Produktion von mineralischem Dünger sind die Eutrophierung und Treibhausgasemissionen um einiges geringer. Dazu sind jedoch noch kaum Nachweise vorhanden (Schmitt & de Vries, 2020). Aus diesen Gründen resultiert das wachsende Interesse für die Verwendung von Frass in der Pflanzenproduktion, wodurch das Thema auch in der Forschung mehr Beachtung findet. Thematisiert wurden bisher hauptsächlich Frass aus der Larvenproduktion der Schwarzen Soldatenfliege (*Hermetia illucens*) und des Mehlkäfers (*Tenebrio molitor*).

Hermetia illucens ist zurzeit die meist untersuchte Insektenart bezüglich Massenproduktion, aufgrund deren Fähigkeit organisch Abfallstoffe wie Mist und Essensreste zu hochwertigem Protein umzuwandeln (Choi et al., 2009; Kebli & Sinaj, 2017; Quilliam et al., 2020; Setti et al., 2019). Die Produktion dieser Insektenart wird höchstwahrscheinlich in Zukunft die grössten Mengen an Frass akkumulieren (Schmitt & de Vries, 2020). Frass kann ausserdem 80–90% des gesamten Outputs der Produktion von *Hermetia illucens* ausmachen. Vermarktet wird Frass als organisches Düngemittel unter anderem in den USA, Südafrika, China und der EU. Dabei wird Frass hauptsächlich für die Anwendung im Hausgarten verkauft. Die Verwendung sollte aber auch in der organischen Landwirtschaft und Hortikultur möglich sein, da die Nachfrage nach hochwertigem, organischem Düngemittel gross ist (Gärtling et al., 2020). Neben einer Düngewirkung können die hohe Mikrobenzahl, die hohe Konzentration an Enzymen und das Chitin im Frass die Pflanzenvitalität steigern (Elissen et al., 2019).

2.1.1 Chemische und mikrobiotische Eigenschaften von Frass

Auffallend sind die starken Unterschiede der chemischen Eigenschaften und Inhaltsstoffe von Frass aus verschiedenen Insektenproduktionen (Tabelle 1).

Unterschiede wurden auch innerhalb derselben Insektenart festgestellt, was vor allem auf unterschiedliche Futterzusammensetzungen zurückgeführt werden könnte. *Hermetia illucens* kann beispielsweise mit einer Vielzahl von Futtermitteln produziert werden (Schmitt & de Vries, 2020). Da im Frass auch Anteile von unverdaulichem Futter vorhanden sind, hat das verwendete Futter auch einen direkten Einfluss auf die Eigenschaften des Frasses. Es ist ausserdem bekannt, dass die Futterart die Darmflora des Insekts beeinflussen kann und dessen Exkremente haben schliesslich Einfluss auf das Mikrobiom des Frasses. Die hohe Feuchtigkeit und Wärme, welche üblich ist in der Insektenproduktion, haben grundsätzlich positive Auswirkungen auf das Wachstum von Mikroorganismen im Frass. Die ständige Durchmischung des Substrates durch die Larven begünstigt zudem die Substratstruktur und die Nährstoffmineralisierung; ein Effekt, welcher der Aktivität von Regenwürmern im Boden ähnelt (Klammsteiner et al., 2020).

Auch bei *Tenebrio molitor* hat die Futterzusammensetzung Auswirkungen auf die Frasseigenschaften. Unterschiedliche Futterzusammensetzungen resultieren in verschieden hohen Makro- und Mikronährstoffgehalten des Frasses, was ebenfalls eine unterschiedliche Wirkung auf das Pflanzenwachstum und die Pflanzenstärkung zeigte. Im Frass von *Tenebrio molitor* wurden Mikroorganismen festgestellt, welche das Pflanzenwachstum positiv beeinflussen. Darunter wurden auch Antagonisten von Pflanzenkrankheiten gefunden aus den Gattungen *Bacillus* sp., *Pantoea* sp., *Brevibacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Paenibacillus* sp. und *Aspergillus* sp. (Poveda et al., 2019).

Tabelle 1: Chemische Eigenschaften von Frass aus verschiedenen Untersuchungen, TM = Trockenmasse, EC = dS m⁻¹, NPK = %

Insektenart	Futter	NPK	pH	C/N	EC	TM	Quelle
<i>Musca domestica</i>	Schweinemist	2.5 / 4 / 2.1	7.9	-	-	88%	Kováčik et al. (2010)
<i>Bombyx mori</i>	-	2.6 / 1 / 2.7	7.3	-	-	89%	Lochynska & Frankowski (2019)
<i>Hermetia illucens</i>	Hühnerfutter	2.6 / - / -	6.2	18.5	5.67	91%	Klammsteiner et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	Früchte / Gemüse	1.8 / - / -	5.6	26.6	2.36	90%	Klammsteiner et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	Grasschnitt	2.4 / - / -	5.4	18.2	3.06	90%	Klammsteiner et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	Schweinemist	-	7.0	10.2	-	-	Newton et al. (2005)
<i>Hermetia illucens</i>	Essensreste	1.5 / 1 / 1	6.9	20.9	-	-	Salomone et al. (2017)
<i>Hermetia illucens</i>	-	3.7 / 2.4 / -	7.1	-	-	42%	Elissen et al. (2019)
<i>Hermetia illucens</i>	50% Weizenkleie 30% Luzernemehl 20% Maismehl	4.4 / 5.2 / 4.1	8.8	8	8.5	49%	Setti et al. (2019)
<i>Hermetia illucens</i>	-	3 / 2.5 / 0.5	-	-	-	-	Entofood Fertilizer (2020)

<i>Hermetia illucens</i>	Kaffeeschalen	1.3 / 0.5 / 2.8	-	24	-	-	Suantika et al. (2017)
<i>Hermetia illucens</i>	Pflanzliche Abfälle	3.5 / 1.2 / 3.3	7.5	-	-	-	Kebli & Sinaj (2017)
<i>Hermetia illucens</i>	Hühnermist	2.7 / 5.0 / 3.8	8.3	-	-	-	Wu et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	Hühnermist	2.7 / - / -	8.5	11.7	8.26	-	Bortolini et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	Schweinemist	1.4 / 6.7 / 2.0	8.6	-	-	-	Cai et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	-	3.3 / 3.4 / 2.4	9.0	-	-	82%	Gärttling et al. (2020)
<i>Hermetia illucens</i>	-	- / 2.1 / -	7.0	-	0.5	-	Choi et al. (2009)
<i>Tenebrio molitor</i>	Weizenkleie	5 / 2 / 1.7	5.8	7.9	5.3	88%	Houben et al. (2020)
<i>Tenebrio molitor</i>	66% Kohlenhydrate 6% Fett 28% Protein	2.9 / 1.5 / 1.9	-	13.3	-	-	Poveda et al. (2019)
<i>Tenebrio molitor</i>	49% Kohlenhydrate 12% Fett 39% Protein	7.8 / 1 / 1.2	-	5.5	-	-	Poveda et al. (2019)

Der Ammoniumstickstoff im Frass von landlebenden Insekten kann 9–27% des Gesamtstickstoffs ausmachen. Bei einer hohen Feuchtigkeit des Frasses und einem erhöhten pH-Wert besteht die Gefahr von Ammoniakentweichungen. Bei der Nachbearbeitung von Frass zur Verminderung von Phytotoxizität besteht noch wenig Erfahrung. Die Zugabe von Kompost könnte beispielsweise die Ammoniakbildung verringern. Auch die Trocknung des Frasses vor der Anwendung kann die Phytotoxizität senken (Gärttling et al., 2020). Erhöhte Temperaturen begünstigen ebenfalls die Formierung von Ammoniak. Ammoniak wirkt schon in geringen Konzentrationen gelöst in der Rhizosphäre als auch gasförmig in der Pflanzenkrone phytotoxisch. Ein erhöhter Ammoniumgehalt mit einem unausgeglichene Konzentrationsverhältnis mit Nitrat kann ebenfalls schädlich für die Pflanze sein. Die Absonderung von H^+ durch die Pflanzenwurzeln zur Lösung des Stickstoffs vom Ammonium-Molekül führt zu einer Abnahme des pH-Werts in der Rhizosphäre. Die Lagerung des Substrats nach der Zugabe des organischen Zusatzes über mehrere Wochen könnte den Ammoniumgehalt reduzieren und die Mineralisierung der Nährstoffe begünstigen. Die Erhöhung der Anzahl an nitrifizierenden Bakterien durch die Zugabe von reifem Kompost kann ebenfalls den Ammoniumgehalt senken (Frerichs et al., 2020).

2.1.2 Verwendung als Düngemittel und Substratzusatz

Bisher wurden bei der Verwendung von Frass in Topf- und Feldversuchen vorwiegend positive Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum festgestellt, welche teilweise auch mit mineralischem Dünger oder wachstumsförderndem Topfsubstrat vergleichbar waren.

Kováčik et al. (2010) beobachtete einen positiven Einfluss von Hausfliegen-Frass (*Musca domestica*) (4, 6 und 8 t/ha) auf das Wachstum und die Samenproduktion von Sonnenblumen. Mineralischer Dünger hatte jedoch leicht bessere Werte erzielt. Lochyńska & Frankowski (2019) stellten ebenfalls eine Düngewirkung von Frass fest. In einem Topfversuch förderte eine geringe

Menge von 18 g und 36 g Seidenspinner-Frass (*Bombyx mori*) in 20 kg Substrat das Höhenwachstum von Hanf (*Cannabis sativa*).

Hermetia illucens

Aufgrund der 4–5 Larvenhäutungen von *Hermetia illucens* ist der Frass nach der Ernte der Insekten mit Chitin angereichert (Quilliam et al., 2020). Bei Keimtests mit *Hermetia*-Frass wurde bisher keine Phytotoxizität bei Kresse (*Lepidium sativum*) und Salat (*Lactuca sativa*) festgestellt. Der Gehalt an Schwermetallen im untersuchten Frass erlaubt den Verkauf als Düngemittel in Europa nach der Verordnung (EG) Nr. 2003/2003 (Bortolini et al., 2020; Setti et al., 2019). Der Ammoniumstickstoffgehalt in *Hermetia*-Frass wurde ebenfalls als gering beschrieben (Alattar et al., 2016). Sowohl der pH-Wert als auch der EC-Wert des *Hermetia*-Frasses (8.5 und 8.26) sind für eine 100%ige Anwendung als Substrat ungeeignet. Jedoch ist das C/N-Verhältnis (11.7) dem Pflanzenwachstum förderlich (Bortolini et al., 2020). Die unterschiedlichen Eigenschaften des Frasses aus verschiedenen Produktionen (Tabelle 1) lassen jedoch keine verallgemeinernden Aussagen zur Wirkung des Frasses auf das Pflanzenwachstum zu.

Bei höheren Konzentrationen von Frass im Substrat oder Boden kann das Wachstum der Pflanzen negativ beeinflusst werden, dabei gibt es auch Unterschiede zwischen den Pflanzenarten und den verwendeten Bodentypen. Newton et al. (2005) stellten fest, dass die Trockenmasse von Basilikum (*Ocimum basilicum*) am höchsten war mit 5% und 10% Volumen *Hermetia*-Frass in lehmigem Boden und in Sand bei 10% und 20% Volumen. Bei 40% und 50% Anteil war das Wachstum in beiden Mischungen gehemmt. Alattar et al. (2016) ermittelten ein gehemmtes Pflanzenwachstum von Mais (*Zea mays*) in Boden mit 33% Volumen *Hermetia*-Frass. Als Ursachen wurden eine verschlechterte Nährstoffversorgung und Bodenstruktur vermutet, da der Frass einen hohen Feuchtigkeitsgehalt aufwies. Gärtling et al. (2020) verwendeten Frass von *Hermetia illucens* mit verschiedenen N- und P-optimierten Anwendungsmengen (215 kg N/ha, 180 kg N/ha und 73 kg P/ha) in einem Topfversuch bei Mais (*Zea mays*). Die Pflanzen hatten einen grösseren N- und P- Gehalt bei den entsprechend höheren Düngungsvarianten und das Pflanzenwachstum wurde bei höherer N-Gabe ebenfalls gefördert. Das Wachstum war vergleichbar wie bei der Verwendung von organischem und mineralischem Dünger.

In einem Topfversuch wurde das beste Wachstum von Salat (*Lactuca sativa* cv. Chiara), Tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Roma) und Basilikum (*Ocimum basilicum*) zwischen 10% und 20% Volumen *Hermetia*-Frass in Torf im Vergleich zu 30% und 40% erzielt. Bei Salat waren die Höhe, der Sprossdurchmesser, die Blattfläche und die Trockenmasse am grössten bei 10% Frass. Die Blattanzahl war am grössten bei 20% Volumen Frass. Die Ergebnisse waren gleich hoch oder teilweise grösser als mit mineralischem Dünger (Setti et al., 2019). Bortolini et al. (2020) entdeckten

ebenfalls bei Salat (*Lactuca sativa* cv. Chiara) mit 40% Volumenanteil *Hermetia*-Frass in Torf ein geringeres Wachstum im Vergleich zu 10% Frass.

Bei Reispflanzen wurden durch die 4%ige Zugabe von *Hermetia*-Frass im Boden das Wachstum und der Ernteertrag erhöht. Die Beimengung eines 8%igen Frasses hatte jedoch den gegenteiligen Effekt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe war das Wachstum geschwächt und der Ertrag verringert. Dieses Ergebnis wurde auf den hohen organischen Gehalt des Frasses (64%) und des Bodens (6.52%) zurückgeführt, was eine ungleiche Aufnahme von Nährstoffen durch die Pflanze bewirkt. Eine Überdüngung der Pflanzen wurde durch die rasche Mineralisierung der Nährstoffe des Frasses ebenfalls angenommen (Wu et al., 2020).

Kohl, welcher mit Frass von *H. illucens* gedüngt wurde, wies ein gleich starkes Wachstum innerhalb von vier Wochen auf wie derjenige, welcher mit mineralischem Dünger behandelt wurde. Der Frass hatte die selbe chemische Zusammensetzung von Makro- und Mikronährstoffen wie der mineralische Dünger und die direkte Anwendung auf der Kulturfläche wurde als eine gute Düngemassnahme bewertet (Choi et al., 2009). Es wurde ausserdem bei Englischem Raigras (*Lolium perenne*) und Schnittsalat (*Lactuca sativa* var. *crispa*) eine positive Düngewirkung festgestellt. Im Topfversuch war vor allem die Anwendung in saurem und sandigem Boden vielversprechend, wobei die Wirkung mit mineralischem Dünger vergleichbar war (Kebli & Sinaj, 2017). Klammsteiner et al. (2020) bemerkten ebenfalls bei *Lolium perenne* ein ähnlich hohes Pflanzenwachstum im Vergleich zu mineralischem Dünger. Die applizierte Menge an Stickstoff im Substrat durch den Frass war gleich hoch wie bei der mineralischen Düngung, was die hohe Pflanzenverfügbarkeit der Nährstoffe im Frass aufzeigt.

Tenebrio molitor

Houben et al. (2020) beschreiben den Makronährstoffgehalt von *Tenebrio-molitor*-Frass als vergleichbar mit demjenigen von Hühnermist, zudem ist der Mikronährstoffgehalt im Vergleich zu den meisten mineralischen Düngern ebenfalls hoch. Der Gehalt an Cellulose und Lignin ist gering und die Mineralisierung des Kohlenstoffs läuft schnell ab, wobei eine Woche nachdem der Frass im Boden angewandt wurde, 37% des organischen Kohlenstoffs mineralisiert war. Die Mineralisierung lief konstant in einem geringeren Tempo weiter, bis nach 91 Tagen 56% des Kohlenstoffs mineralisiert war. 37% des Stickstoffs war nach zwei Wochen mineralisiert und 55% nach 91 Tagen. Im Vergleich zur Negativkontrolle und der Positivkontrolle konnte bei einem Topfversuch die Düngung mit Frass (10 t/ha) nach neun Wochen die mikrobiologische Aktivität erhöhen. Die mikrobielle Aktivität wurde an der Fähigkeit der Mikroorganismen, verschiedene Substrate zu oxidieren, gemessen (Community-level physiological profiles). Wurde Frass in Kombination mit mineralischem Dünger (1:1) ins Substrat gemischt, wurde die höchste mikrobielle Aktivität festgestellt.

Im Frass konnten von Poveda et al. (2019) unter den vorhandenen Mikroorganismen solche mit wachstumsfördernden und pathogen unterdrückenden Eigenschaften gefunden werden, welche teilweise für ein erhöhtes Wachstum bei Mangold und eine Resistenzinduktion gegen abiotischen Stress bei Bohnen verantwortlich waren. Es wurde Frass von drei verschiedenen Fütterungsvarianten verwendet. Der Frass konnte bei allen Fütterungsvarianten bei einer Zugabe von 2% (w.) im Substrat das Wachstum von Mangold im Vergleich zur Negativkontrolle erhöhen. Die unterschiedlichen Einflüsse der drei Frass-Varianten auf das Wachstum wurde beim Topfversuch mit der Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris*) und induzierten abiotischen Stressfaktoren wie Salzstress, Trockenheit und Staunässe bemerkbar. Eine Frass-Variante induzierte meistens eine gewisse Resistenz zu den Stressfaktoren und das Wachstum war vergleichbar oder sogar besser als die Positivkontrolle mit mineralischem Dünger. Bei den anderen beiden Frass-Varianten gab es keine einstimmige Resistenz gegen abiotischen Stress.

Bei Gerste (*Hordeum vulgare*) erhöhte die Düngung (10 t/ha) mit *Tenebrio-molitor*-Frass die Biomasse der Pflanzen nach neun Wochen im Vergleich zur Negativkontrolle. Der Effekt war mit der mineralischen Düngung vergleichbar. Die N-, P- und K-Aufnahme der Pflanzen waren mit Frass erhöht und mit mineralischer Düngung vergleichbar (Houben et al., 2020).

2.1.3 Wirkung gegen Pflanzenpathogene

Die Wirkung von Frass gegen Erreger von Pflanzenkrankheiten wurde noch kaum untersucht. Bei einem Kressetest konnten Setti et al. 2019 mit 20% Volumenanteil *Hermetia*-Frass im Substrat die Symptome von *Sclerotinia minor* unterdrücken, jedoch wurde gegen *Rhizoctonia solani* keine Wirkung erzielt. Weiter wurden Wirkungen gegen *Pythium ultimum* bei Kresse (*Lepidium sativum*) (Elissen et al., 2019) und gegen *Fusarium oxysporum* bei Kuhbohnen (*Vigna unguiculata*) (Quilliam et al., 2020) festgestellt.

2.2 Chitin

Chitin ist ein Polymer bestehend aus *N*-Acetyl-D-Glucosamin (GlcNAc) in einer β -1,4-Bindung (Berezina, 2016; De Boer et al., 1999; Sahai & Manocha, 1993; Thompson et al., 2001) (Abbildung 1).

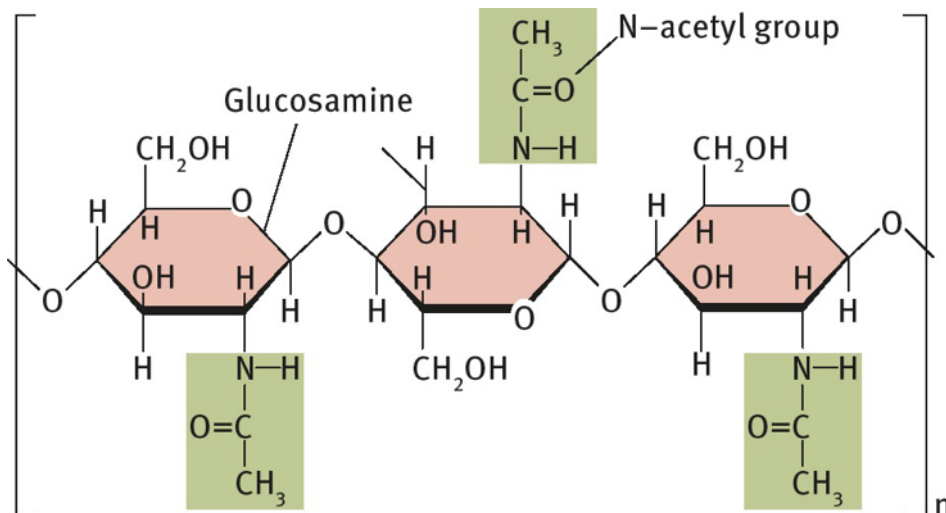


Abbildung 1: Chemische Struktur von Chitin (Berezina, 2016)

Aufgrund der *N*-Acetyl-Gruppe ist Chitin schlecht wasserlöslich. Durch die Deacetylierung von Chitin entsteht Chitosan, welches wasserlösliche Eigenschaften hat (Abbildung 2). Chitin kommt in drei verschiedenen Strukturen (Typ α , β und γ) vor, welche unterschiedliche Verteilungen der Chitin-Moleküle aufweisen. Die stabilste Struktur bildet der α -Typ, welcher am häufigsten in der Natur vorkommt (Berezina, 2016).

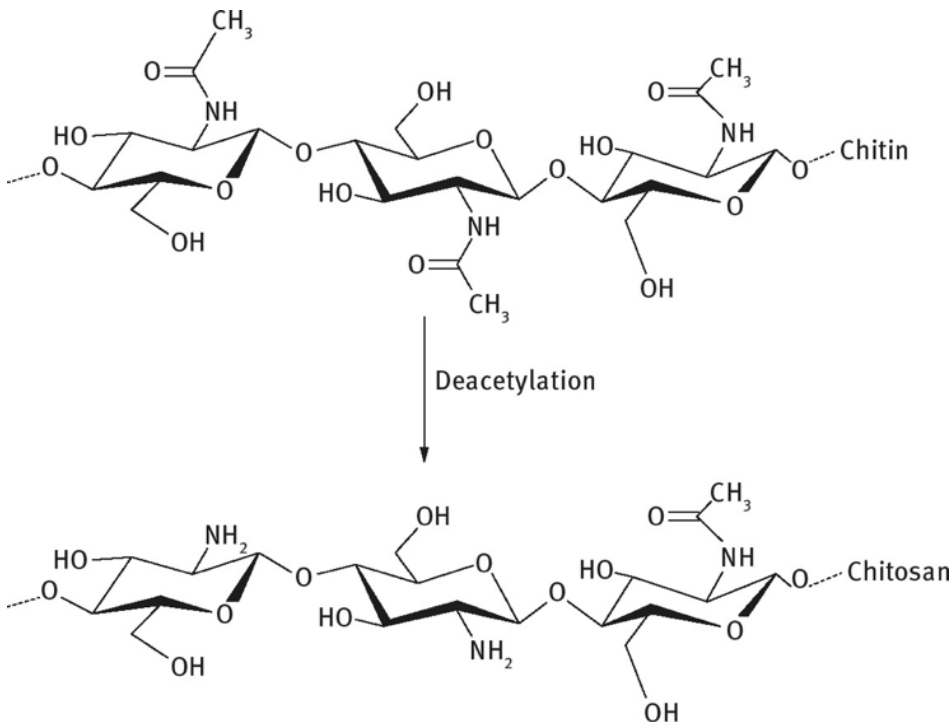


Abbildung 2: Herstellung von Chitosan durch Hydrolyse der *N*-Acetyl-Gruppe in Chitin (Berezina, 2016)

Chitin kommt in Zellwänden von Pilzen, Nematoden-Eiern und in Exoskeletten von Arthropoden vor (De Boer et al., 1999; Sahai & Manocha, 1993). Chitin zeigt aufgrund der polymerischen Struktur keine direkte antibiotische Wirkung, kann aber im Boden eine Vielzahl nützlicher Eigenschaften für

Pflanzen haben. In der Landwirtschaft wird hauptsächlich aus Krebstieren gewonnenes Chitin verwendet (Ramírez et al., 2010; Sharp, 2013).

Chitin wird durch hydrolytische Enzyme, den Chitinasen, zu Oligosacchariden, Diacetylchitobiose oder N-Acetylglucosamin abgebaut (Thompson et al., 2001). Endochitinase spaltet das Chitin an zufälligen Stellen innerhalb des Moleküls auf, wodurch lösliche Chitin-Multimere entstehen, wie Chitiotetraose, Chitotriose oder Di-Acetylchitobiose. Chitobiosidase ist eine Form von Exochitinase und führt zur Freisetzung von Di-Acetylchitobiose am nicht-reduzierten Ende von Chitin. 1-4- β -N-Acetylglucosaminidase, eine andere Form von Exochitinase, spaltet Oligomere von Chitin, produziert von Chitobiosidase und Endochitinase, zu Chitin-Monomeren auf (Cohen-Kupiec & Ilan, 1998).

2.2.1 Förderung chitinolytischer Mikroorganismen und Erhöhung der Chitinase-Aktivität im Boden

Chitin fördert Chitin abbauende Mikroorganismen im Boden, wie beispielsweise den bekannten Nützling *Trichoderma* sp. Beim Abbau von Chitin spielt das Enzym Chitinase eine wichtige Rolle. Die Chitinaseaktivität im Boden wird durch Chitin erhöht und chitinhaltige Schädlinge wie pflanzenpathogene Pilze und Nematoden werden dadurch bekämpft (De Tender et al., 2019; Ramírez et al., 2010; Sharp, 2013).

Vor allem der Bakteriengattung *Streptomyces* der Ordnung *Actinomycetales* wird eine antagonistische Wirkung gegen Pilzpathogene zugesprochen, welche dazu fähig sind Chitin rasch abzubauen (De Boer et al., 1999; Ueno & Miyashita, 2000). De Boer et al. (1999) stellten fest, dass die Menge an Chitin im Boden (0.5 % in verschiedenen Küstenböden, w.) bei 20 °C nach vier Wochen Inkubation zur Hälfte abgebaut war.

Der Zeitpunkt der maximalen Chitinaseaktivität im Boden variierte nach der Applikation von Chitin je nach der Zusammensetzung der Mikroflora, der Bodenart, den Inkubationsbedingungen oder der Beschaffenheit des Chitins (Ueno & Miyashita, 2000).

Actinomyceten wie *Streptomyces viridodisticus* und *Micromonospora carbonacea* und chitinolytische Bakterien wie *Serratia marcescens* produzieren neben Chitinasen auch andere Enzyme wie β -1,3-Glucanase, welche bei der Bekämpfung von Chitin- und β -1,3-glucanhaltigen Erregern wie *Sclerotinia minor*, *Rhizoctonia solani* und *Pythium ultimum* beteiligt sind und die Wurzeln vor einer Infektion schützen (El-Tarabily et al., 2000). Auch von mykoparasitischen Pilzen wie *Trichoderma* spp. werden Chitinasen in Kombination mit β -1,3-Glucanase produziert (Sahai & Manocha, 1993). Chitinasen und β -1,3-Glucanasen wirken synergistisch, wodurch mittels Förderung von chitinolytischen Mikroorganismen auch Pathogene mit β -1,3-Glucan anstatt Chitin in den Zellwänden bekämpft werden (Prasannath, 2017).

2.2.2 Chitinaseinduktion in der Pflanze

Pflanzen können Chitin-Oligomere durch Rezeptoren in der Zellmembran erkennen, wodurch verschiedenste Abwehrmechanismen eingeleitet werden und eine systemische Resistenz gegen Pathogene induziert wird (De Tender et al., 2019; Ramírez et al., 2010; Sharp, 2013). Gene, welche die Biosynthese von Chitinase und β -1,3-Glucanase einleiten, sind die bekanntesten Pathogenese spezifischen Gene von Pflanzen. Diese Enzyme sind in der Lage, das Chitin und β -Glucan in den Zellwänden von Schadpilzen aufzuspalten (Amaral et al., 2012). β -1,3-Glucan kommt als Hauptbestandteil in den Zellwänden von Oomyceten vor, welche kein Chitin beinhalten. Die Produktion von β -Glucanase in Pflanzen wird durch Bakterien, Viren und Pilzen induziert. Da in vielen Pilzen Chitin und β -1,3-Glucan vorkommt, arbeiten Chitinasen und β -1,3-Glucanasen synergistisch als Abwehrenzyme von Pflanzen bei der Schwächung der Zellwände von Schadpilzen (Prasannath, 2017). Pflanzen produzieren hauptsächlich Endochitinasen (Sahai & Manocha, 1993). Die Induktion von Chitinase geschieht nicht nur durch Chitin-Oligomere und durch Infektionen mit chitinhaltigen Pilzpathogenen, sondern auch durch viele andere Organismen und Faktoren wie beispielsweise Viren, Bakterien, mechanischen Verletzungen oder Salzstress (Punja & Zhang, 1993; Sahai & Manocha, 1993). Chitinasen treten in verschiedensten Geweben wie Blättern, Blüten, Wurzeln, Stängeln oder Samen auf. In der Pflanze kann Chitinase spezifisch im Gewebe am Ort der Erkennung des Stressfaktors akkumulieren oder wird systematisch in der Pflanze produziert (Punja & Zhang, 1993).

Im Pflanzengewebe, entweder in der Vakuole oder im extrazellulären Raum, besteht eine Grundkonzentration von Chitinase. Die Chitinasekonzentration wird spezifisch durch Verletzungen und Infektionen mit Bakterien oder Pilzen drastisch erhöht. Eine unspezifische Chitinase-Induktion wird durch Viren oder toxische Chemikalien ausgelöst. Die Enzymaktivität kann auch zwischen Entwicklungsstadien der Pflanze und den Gewebetypen variieren. In den Wurzeln wird gewöhnlich mehr Chitinase produziert, um die kontinuierlichen Angriffe durch Bodenpilze und Bakterien abzuwehren. Die Induktion ist am höchsten im Gewebe nahe der Infektion. Bei Gurken wurde auf den mit *Colletotrichum lagenarium* infizierten Stellen auf den Blättern eine 600-fache Steigerung der Chitinaseaktivität festgestellt, was einem zehnfach höheren Wert als bei den gesunden Stellen entspricht. Auf nicht infizierten Blättern waren die Werte noch tiefer, jedoch auch erhöht. Die Aktivität erreichte in wenigen Tagen nach der Infektion den Maximalwert. Bei den Gurkenblättern wurde ein konstantes Wachstum in vier Tagen bemerkt und darauf ein folgendes Absinken. Bei Tomaten wurde nach der Infektion mit *Cladosporium fulvum* der Maximalwert nach zehn Tagen erreicht und verblieb auf diesem Wert (Graham & Sticklen, 1994).

Die Produktion von Chitinase und β -Glucanase in der Pflanze wird auch durch nützliche Mikroorganismen induziert, welche beide Enzyme selbst produzieren wie beispielsweise *Trichoderma* spp. Bei Salat (*Lactuca sativa*) wurde durch Wurzeltauchen mit einer

Sporensuspension von *Trichoderma asperellum* in den Blättern eine erhöhte β -1,3-Glucanase-Aktivität nach einem Tag und nach zwei Tagen festgestellt. Durch Wurzeltauchen und Besprühung der Blätter mit einer Sporensuspension von *T. asperellum* wurde ebenfalls nach einem Tag und nach zwei Tagen die Chitinaseaktivität in den Blättern erhöht (Baiyee et al., 2019).

2.3 Bodenbürtige Pflanzenpathogene

2.3.1 Schwarzbeinigkeit von Keimlingen – *Pythium ultimum*

Pythium spp. ist eine weltweit verbreitete Gattung, welche in Wasser, Boden, Pflanzen und Tieren als Saprophyten, Mutualisten oder Parasiten vorkommen. *Pythium ultimum* ist die am häufigsten im Boden vorkommende *Pythium*-Gattung und befällt Samen und Sämlinge einer hohen Anzahl an Wirtspflanzen. Eine Infektion führt zum Umfallen von Keimlingen und zu Wurzelfäule, welche das Pflanzenwachstum verringert. Die optimale Temperatur für das Wachstum von *Pythium ultimum* beträgt 28 °C. Unter 5 °C und über 40 °C erfolgt kein Wachstum. Eine Dämpfung des Bodens und der Einsatz von chemischen Mittel werden zur Bekämpfung eingesetzt, wobei *Pythium* spp. gegen viele chemische Stoffe eine Immunität zeigt. Da die Bodendämpfung nicht breit eingesetzt werden kann und der Einsatz von chemischen Pestiziden umweltschädlich ist, werden biologische Bekämpfungsmassnahmen gesucht (Abdelzaher, 2003). Die Gattung *Pythium* spp. gehört wie *Bremia lactucae* (Mehltau) oder *Phytophthora* spp. zu den Oomyceten, welche hauptsächlich Cellulose statt Chitin in den Zellwänden haben. Oomyceten bilden pilzartige Hyphen aus, sind jedoch näher mit den Protisten verwandt, weshalb die meisten chemischen Fungizide nicht sehr wirksam gegen *Pythium* spp. sind (Hardham, 2007).

Bei der Verwendung von Kompost wurde schon eine suppressive Wirkung gegen *Pythium ultimum* festgestellt, unter anderem auch gegen *Rhizoctonia solani* und *Verticillium dahliae*. Als Ursache kommen hauptsächlich antagonistisch wirkende Mikroorganismen in Frage (Pane et al., 2011). Der Bakteriengattung *Bacillus subtilis* wird eine besondere Wirkung gegen *Pythium ultimum* zugesprochen (Abdelzaher, 2003; Jenana et al., 2020).

Fünf Komposte aus verschiedenen Herkunftten unterdrückten mit 10%- und 20%iger Zugabe in Torfsubstrat *Pythium ultimum* bei Kresse (*Lepidium sativum*). Die verringerte Wirkung bei der Sterilisierung des Komposts vor der Anwendung deutet auf die Wichtigkeit der Mikroorganismen gegen *Pythium ultimum* hin. Bei Pathogenen wie *Rhizoctonia solani* und *Sclerotinia minor* unterdrückten nicht alle Komposte die Schadwirkung. Durch diese unbeständige Wirkung ist die universale Anwendung von Kompost gegen Pathogene schwierig (Pane et al., 2011).

2.3.2 Schwarzfäule bei Salat – *Rhizoctonia solani*

Schwarzfäule ist die am häufigsten auftretende Salatfäule bei Kopfsalat und wird durch den bodenbürtigen Schadpilz *Rhizoctonia solani* verursacht. Der Pilz befällt meist die untersten, auf dem

Boden aufliegenden Blätter, welche vertrocknen und sich bräunlich-schwarz verfärben. Nur bei sehr starkem Befall sterben die Pflanzen komplett ab. Ein tiefer pH-Wert sowie ein hoher Humusgehalt und Temperaturen zwischen 25 °C und 27 °C begünstigen den Befall. Bei kühlen und feuchten Bedingungen tritt der Pilz ins Kopfinnere vor und auf der Pflanze bildet sich ein Myzel. Bei trockenen Bedingungen werden die Blätter dünn und durchsichtig, wobei die Blattadern dunkel zu erkennen sind (Sauer et al., 2020).

Rhizoctonia solani ist ein weltweit verbreiteter Erreger, welcher ca. 500 Wirtspflanzenarten befällt und grosse Schäden an Kulturen verursachen kann. Bisher sind 13 Anastomosegruppen des Pilzes bekannt, welche eine gewisse Wirtsspezifität aufweisen. In Mitteleuropa werden hauptsächlich Salat, Kartoffeln, Radieschen und Zuckerrübe befallen. Die Salatfäule durch *Rhizoctonia solani* wurde erstmals im Jahr 1900 in Massachusetts festgestellt. Nach ersten rötlichen oder bräunlichen Läsionen auf den Mittelrippen der unteren Blätter breitet sich der Pilz durch das Myzel auf der Blattoberfläche in den oberen Blättern aus. Die Krankheit wird erst zum Erntezeitpunkt deutlich, wobei braune bis schwarze Sklerotien auf der Pflanze sichtbar werden. Mischinfektionen mit *Pythium*, *Botrytis*, *Sclerotinia* und Bakterien erschweren die Fäule. Das Pilzwachstum weist ein Optimum bei 20°C bis 30°C auf, wobei die Krankheitsentwicklung bei höheren Temperaturen schneller abläuft (Grosch et al., 2006).

Die Anwendung von Chitin in Substrat konnte den Befall durch *Rhizoctonia solani* bei Zuckerrüben unterdrücken. Die Chitinapplikation war mit einer erhöhten Anzahl des Bakteriums *Lysobacter* spp. verbunden, welches eine antagonistische Wirkung gegen *Rhizoctonia solani* aufweist (Postma & Schilder, 2015). Die mykoparasitische Pilzgattung *Trichoderma* spp. ist bekannt dafür, *Rhizoctonia solani* zu hemmen. Auch eine Wirkung gegen *Pythium* spp. ist bekannt. Isolate von *Trichoderma* spp. können sich jedoch stark bezüglich ihrer Wirksamkeit unterscheiden. Nur acht von 390 getesteten Isolaten unterdrückten bei 20°C das Myzelwachstum von *Rhizoctonia solani*. Bei 12°C haben nur vier Isolate *Rhizoctonia solani* unterdrückt. Die Pilze gehörten zu den Arten *Trichoderma viride* und *Trichoderma reesei*. Nur zwei der Isolate zeigten eine Chitinaseaktivität, während alle eine Glucanase- und Proteaseaktivität zeigten. Die Wachstumshemmung bei Salat durch *Rhizoctonia solani* wurde von allen Isolaten eingeschränkt, jedoch nicht komplett verhindert (Grosch et al., 2007).

2.3.3 Verticillium-Welke – *Verticillium dahliae*

Verticillium-Welke bei Kopfsalat wurde als erstes im Jahr 1995 in der Küstenregion von Kalifornien festgestellt. Die Pflanzen werden über die Wurzeln befallen und das Leitgewebe verfärbt sich braun bis schwarz. Symptome werden zur Marktreife beim Übergang des vegetativen ins generative Wachstum sichtbar, wobei die untersten Blätter zuerst welken und Chlorosen und Nekrosen erleiden bevor die oberen Blätter Symptome zeigen (Klosterman & Hayes, 2009).

Verticillium dahliae ist die geographisch meistverbreitete *Verticillium*-Art und hat das weiteste Spektrum an Wirtspflanzen. Die Ernteverluste bei Salat können schwer ausfallen. Die Bekämpfung gestaltet sich schwierig, da der Pilz durch Mikrosklerotien über zehn Jahre im Boden überdauern kann (Inderbitzin et al., 2018).

Die Zugabe von 2% Chitin (w.) in Topfsubstrat konnte den Befall von *Verticillium dahliae* bei Baumwolle signifikant hemmen. Die Gesamtanzahl an Mikroorganismen und die Anzahl an Actinomyceten in der Rhizosphäre waren durch das Chitin erhöht worden (Huang et al., 2006).

3 Material und Methoden

3.1 Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Kotpellets (FfW) gegen *Pythium ultimum*

Es wurden zwei verschiedene Konzentrationen von Frass der Insektenart *Trypoxylus dichotomus tsunobosonus* (Hirschkäfer) aus der «Food from Wood»-Produktion (FfW) getestet. Der Frass wurde mit einem Volumen von 10% und 20% in zwei verschiedene Grundsubstrate gemischt. Beide Substrate bestanden zur Hälfte des Volumens aus Aussaaterde («Floradur Block Bio» des Herstellers «Floragard», Datenblatt im Anhang). Das Grundsubstrat 1 wurde mit Quarzsand der Körnung 0.1–0.6 angemischt (1:1, vol.) und das Grundsubstrat 2 mit Quarzsand und Vermiculite (2:1:1, vol.). Mit zwei Negativkontrollen gab es insgesamt sechs Varianten, wobei die Hälfte der 20 Wiederholungen pro Variante mit *Pythium ultimum* inokuliert wurde (Tabelle 2).

Tabelle 2: Varianten von Kresstest 1

Kürzel	Material	Bemerkung
V1	Grundsubstrat 1 + 20% FfW-Frass	-
V1P	Grundsubstrat 1 + 20% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V2	Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass	-
V2P	Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V3	Grundsubstrat 1 + 10% FfW-Frass	-
V3P	Grundsubstrat 1 + 10% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V4	Grundsubstrat 2 + 10% FfW-Frass	-
V4P	Grundsubstrat 2 + 10% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
K1	100% Grundsubstrat 1	Negativkontrolle 1
K1P	100% Grundsubstrat 1	Negativkontrolle 1 mit <i>Pythium ultimum</i>
K2	100% Grundsubstrat 2	Negativkontrolle 2
K2P	100% Grundsubstrat 2	Negativkontrolle 2 mit <i>Pythium ultimum</i>

3.1.1 Versuchsaufbau



Abbildung 3: Kotpellets im Rohzustand



Abbildung 4: Gemahlene Kotpellets

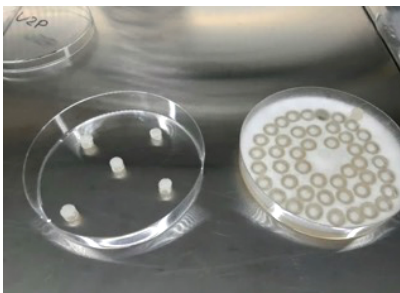


Abbildung 5: Übertragung von *P. ultimum* für den Kresstest



Abbildung 6: Fertige Versuchseinheit beim Kresstest

Die Kotpellets, welche in der Periode von Januar–März 2020 aus der Käferproduktion angefallen sind (Abbildung 3), wurden vor dem Untermischen in die Grundsubstrat gemahlen (Abbildung 4). Von sieben Tage alten *Pythium-ultimum*-Kulturen wurden fünf Rondellen pro Petrischale mit dem Myzel nach oben gerichtet platziert (Abbildung 5). Danach wurde das Substrat eingefüllt und mithilfe eines 1.5-ml-Eppendorf-Tubes wurden die Kressesamen der Sorte «Einfache» (Art. Nr. 10.3001.02, Lot. 4348923 ungebeizt) von «Bigler Samen AG» auf dem Substrat gleichmässig verteilt (Abbildung 6). Die Samenmenge ergab ca. 1.25 g pro Petrischale. Bei den Varianten mit dem Grundsubstrat 1 wurden 30 ml und beim Grundsubstrat 2 aufgrund der höheren Saugkraft 40 ml angewässert. Die Petrischalen wurden bis zur Keimung zwei Tage lang zugedeckt.

Der Versuch wurde sieben Tage lang in Tablaren am Fenster aufgestellt, wobei die Tablare täglich einmal umgestellt und gedreht wurden. Am dritten Tag nach der Aussaat wurden je nach Grundsubstrat 20–40 ml Wasser zugegeben, um den maximal möglichen Wasserstand zu erlangen, da keine Möglichkeit bestand, über das Wochenende zu giessen. Am sechsten Tag wurden nochmals 5–20 ml Wasser zugegeben. Die nötige Wassermenge hing von der Saugkraft des Substrates und dem Wachstum der Pflanzen ab. Die Varianten mit dem Grundsubstrat 1 brauchten grundsätzlich weniger Wasser.

3.1.2 Datenerhebung



Abbildung 7: Messung der Sprosshöhe im Kressetest

Das Höhenwachstum wurde mithilfe eines Metermasses bestimmt (Abbildung 7).

Der Befallsdruck wurde visuell nach den Referenzbildern der Tabelle 3 bewertet. Dabei ist zu beachten, dass die Flächen ohne Pflanzen und die umgefallenen Keimlinge als befallene Fläche gewertet wurden.

Tabelle 3: Referenzbilder zur Bestimmung des Befallsdrucks im Kressetest

0% Befall	10% Befall	25% Befall
		
33% Befall	50% Befall	75% Befall
		
90% Befall	100% Befall	
		

3.2 Kresstest zum Einfluss der Mikroorganismen im Frass gegen *P. ultimum*

Im zweiten Kresstest wurde der Effekt bei einer zweiwöchigen Inkubationszeit und der Sterilisation des Substrates mit 20% FfW-Frass getestet. Es wurden zwei Negativkontrollen und eine Positivkontrolle angesetzt, was eine Anzahl von sechs Varianten ergab (Tabelle 4). Für alle Varianten wurde Grundsubstrat 1 (Aussaaterde: Quarzsand, 1:1, vol.) verwendet. Es wurden Kotpellets verwendet, welche in der Periode von Januar–März 2020 angefallen sind, wie in Kresstest 1.

Das Substrat für die inkubierten Varianten (V2P und K1P) wurde vor der Anwendung konstant mit Hahnenwasser feucht gehalten, zweimal pro Woche gut durchmischt und bei Zimmertemperatur gelagert. Für die sterilisierte Frass-Variante (V3P) wurde das inkubierte Substrat vor der Anwendung einmal autoklaviert. Das Produkt «Trianium-P» von «Andermatt Biocontrol AG» (Datenblatt im Anhang) wurde für die Behandlung der Positivkontrolle verwendet. Im Granulat befinden sich Sporen von *Trichoderma harzianum*, welche durch die Wässerung nach der Aussaat angewendet wurden (0.3 g in 1 l Wasser, 3×10^5 Sporen pro ml, Anwendung in der Vermehrungsphase mit 1.5/m²).

Die Inokulation mit *Pythium ultimum* und die Aussaat des Kresses wurden wie in Abschnitt 3.1.1 durchgeführt. Pro Variante wurden zehn Wiederholungen angesetzt. Nach der Keimung wurden die Pflanzen bis zur Auswertung mit 5–20 ml Wasser gegossen. Sieben Tage nach der Aussaat wurde der Versuch ausgewertet, wobei wie in Abschnitt 3.1.2 vorgegangen wurde.

Tabelle 4: Varianten von Kresstest 2

Kürzel	Material	Bemerkung
V1P	Grundsubstrat 1 + 20% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V2P	Grundsubstrat 1 + 20% FfW-Frass	2 Wochen Inkubation, mit <i>Pythium ultimum</i>
V3P	Grundsubstrat 1 + 20% FfW-Frass	Sterilisation, mit <i>Pythium ultimum</i>
K1	Grundsubstrat 1	Negativkontrolle ohne <i>Pythium ultimum</i>
K1P	Grundsubstrat 1	Negativkontrolle und 2 Wochen Inkubation, mit <i>Pythium ultimum</i>
K2P	Grundsubstrat 1 + <i>Trichoderma harzianum</i>	Positivkontrolle mit <i>Pythium ultimum</i>

3.3 Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Frass dreier Insektenarten gegen *P. ultimum*

Im dritten Kresstest wurden neben dem FfW-Frass zwei weitere Frasse der Insektenarten *Tenebrio molitor* (Mehlwurm) aus der Produktion «Ensectables» und *Hermetia illucens* (Schwarze Soldatenfliege) aus der Produktion «TicInsect» getestet. Pro Frass-Art wurde eine Variante erstellt,

wobei die benötigte Menge an Frass vor dem Untermischen autoklaviert wurde. Als Positivkontrolle wurde Chitin aus Shrimpsschalen (Sigma-Aldrich) ins Substrat gemischt. Mit der Negativkontrolle ergab das eine Anzahl von neun Varianten (Tabelle 5).

Tabelle 5: Varianten von Kressetest 3

Kürzel	Material	Bemerkung
V1P	Grundsubstrat 1 + 4.7% FfW-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V1AP	Grundsubstrat 1 + 4.7% FfW-Frass	autoklaviert, mit <i>Pythium ultimum</i>
V2P	Grundsubstrat 1 + 0.8% Mehlwurm-Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V2AP	Grundsubstrat 1 + 0.8% Mehlwurm-Frass	autoklaviert, mit <i>Pythium ultimum</i>
V3P	Grundsubstrat 1 + 1.6% <i>Hermetia</i> -Frass	mit <i>Pythium ultimum</i>
V3AP	Grundsubstrat 1 + 1.6% <i>Hermetia</i> -Frass	autoklaviert, mit <i>Pythium ultimum</i>
K1	Grundsubstrat 1	Negativkontrolle ohne <i>Pythium ultimum</i>
K1P	Grundsubstrat 1	Negativkontrolle mit <i>Pythium ultimum</i>
K2P	Grundsubstrat 1 + 0.5% Chitin (v./w.)	Positivkontrolle mit <i>Pythium ultimum</i>

Die Anwendungsmenge des Frasses wurde nach den Erfahrungswerten zur Phosphorgrunddüngung bei Topfsubstrat (Wartenberg, 2018) auf 200 mg P₂O₅/l Substrat festgelegt.

Der FfW-Frass wurde vor der Anwendung ca. eine Woche lang bei 25°C getrocknet, um den Trockengehalt von ca. 30% auf ca. 80% zu erhöhen. Damit war der Trockengehalt mit den anderen beiden Frassarten vergleichbar. Beim Anmischen wurden die Substrate leicht angefeuchtet und bis zur Anwendung zwei Tage lang bei Zimmertemperatur gelagert. Zum Zeitpunkt der Aussaat wurden die Glucosaminidase und die Anzahl der chitinolytischen Mikroorganismen der jeweiligen Substratmischungen bestimmt (Methodenbeschrieb in 3.7.1 und 3.6). Die Inokulation mit *Pythium ultimum* und die Aussaat des Kresses wurden wie in Abschnitt 3.1.1 durchgeführt. Es wurden zehn Wiederholungen pro Variante angefertigt. Elf Tage nach der Aussaat wurde der Versuch ausgewertet, wobei wie in Abschnitt 3.1.2 vorgegangen wurde.

3.4 Topfversuch zur Pflanzenschutzwirkung gegen *Rhizoctonia solani* und *Verticillium dahliae* bei Kopfsalat

Im Topfversuch wurden der FfW-Frass und der Mehlwurm-Frass getestet. Es wurden zwei bodenbürtige Pilzpathogene, *Rhizoctonia solani* und *Verticillium dahliae*, ins Substrat inokuliert. Die Positivkontrolle wurde wie im Kressetest 2 mit *Trichoderma harzianum* behandelt. Mit den Negativkontrollen ergab das eine Anzahl von neun Varianten (Tabelle 6). Für jede Variante wurden zehn Wiederholungen angefertigt.

Tabelle 6: Varianten des Topfversuchs

Kürzel	Material	Bemerkung
V1a	Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass	mit <i>Verticillium dahliae</i>
V1b	Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass	mit <i>Rhizoctonia solani</i>
V2a	Grundsubstrat 2 + 20% Mehlwurm-Frass	mit <i>Verticillium dahliae</i>
V2b	Grundsubstrat 2 + 20% Mehlwurm-Frass	mit <i>Rhizoctonia solani</i>
K1a	Grundsubstrat 2	Negativkontrolle mit <i>Verticillium dahliae</i>
K1b	Grundsubstrat 2	Negativkontrolle mit <i>Rhizoctonia solani</i>
K2	Grundsubstrat 2	Negativkontrolle
K3a	Grundsubstrat 2 + <i>Trichoderma harzianum</i>	Positivkontrolle mit <i>Verticillium dahliae</i>
K3b	Grundsubstrat 2 + <i>Trichoderma harzianum</i>	Positivkontrolle mit <i>Rhizoctonia solani</i>

Der Versuch lief insgesamt zehn Wochen lang in einem Klimaraum im Labor 4 an der Forschungsanstalt Agroscope in Wädenswil. Innerhalb dieses Zeitraums wurden je dreimal die Chitinaseaktivität im Substrat und der Pflanze, die Anzahl von chitinolytischen Mikroorganismen im Substrat und die Blattanzahl der Pflanzen gemessen (Abbildung 8). Am Schluss des Versuchs wurden die Frisch- und Trockenmasse des Sprosses und der Wurzeln bestimmt.

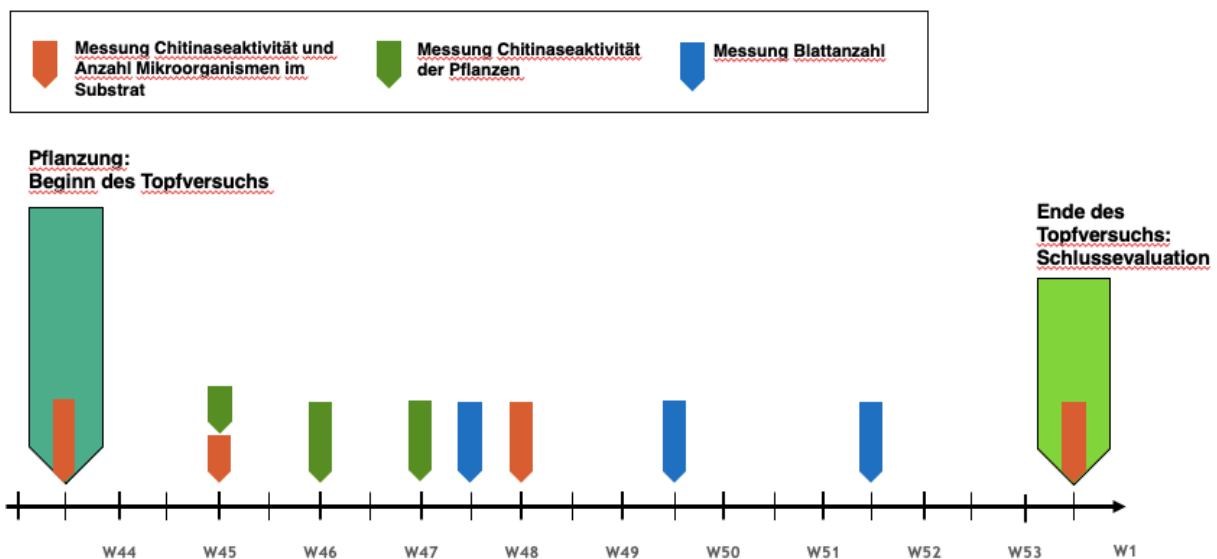


Abbildung 8: Zeitstrahl des Topfversuchs

3.4.1 Versuchsaufbau

Für den Versuch wurde die Kopfsalatsorte «Attraktion» von «Samen Mauser» verwendet. Die Samen wurden in Saatschalen ausgesät (Abbildung 9). Zwei Wochen nach der Aussaat wurden 154 Keimlinge pikiert (Abbildung 10). Die Pflanzen waren bei der Pflanzung ca. 5 Wochen alt (Abbildung 11).



Abbildung 9: Kopfsalatsämlinge
sieben Tage nach der Aussaat



Abbildung 10: Pikierte
Kopfsalatsämlinge



Abbildung 11: Fünf Wochen alte
Kopfsalatsetzlinge

Das Inokulat der beiden Schadpilze wurde auf der Basis von Hirse hergestellt. Fünf Rondellen der mit Pilz bewachsenen Agarplatten wurden auf je 25 g zweifach autoklavierter Hirse in Petrischalen mit 15 cm Durchmesser übertragen (Abbildung 12). Vor der Übertragung wurden 15 ml steriles Wasser in die Petrischale gegeben. Die Petrischalen wurden bei Raumtemperatur gelagert. *R. solani* wurde nach vier Wochen Inkubation bei 5 °C gelagert. Die Petrischalen mit *V. dahliae* wurden insgesamt neun Tage lang inkubiert und direkt für den Versuch verwendet. *R. solani* ist im Vergleich zu *V. dahliae* weniger schnell auf der Hirse gewachsen (Abbildung 13). *V. dahliae* hatte jedoch manchmal kleine Bereiche in der Petrischale nicht bewachsen und in einigen Petrischalen wurden dunkle Sporen sichtbar (Abbildung 14).

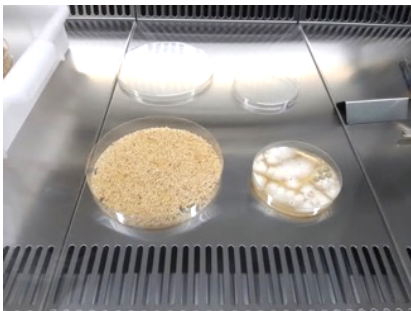


Abbildung 12: Übertragung von *R. solani* auf Hirse

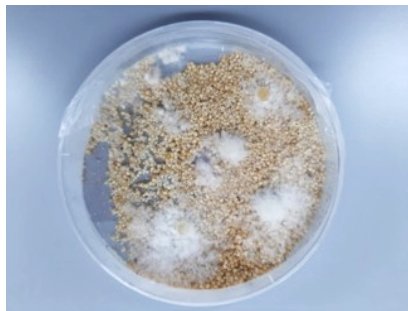


Abbildung 13: *R. solani* nach neun
Tagen Inkubation

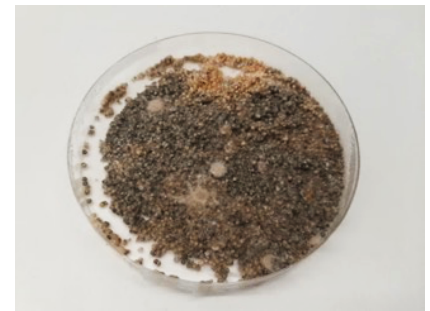


Abbildung 14: *V. dahliae* nach neun
Tagen Inkubation mit
Sporenbildung

Die Hirse wurde mit einem Zwiebelhacker zerkleinert (Abbildung 15). Ca. 20 Petrischalen ergaben für *R. solani* ca. 700 g und für *V. dahliae* ca. 600 g Hirseinokulat. Bei der Anmischung des Grundsubstrats 2 (Abbildung 16) wurde Aussaaterde, Vermiculite und grobkörniger Sand verwendet (2:1:1, vol.). Der Pilz wurde mit einer Konzentration von 1.5% (w.) ins Substrat gemischt.



Abbildung 15: Zerteilung des Inokulats mit dem Zwiebelhacker



Abbildung 16: Anmischung des Grundsubstrates

Das Hirseinokulat mit *R. solani* wurde zur Kontrolle auf Malz-Agar und dasjenige mit *V. dahliae* auf PDA-Medium übertragen. Nach sechs Tagen wurde ein Wachstum von beiden Pilzen festgestellt (Abbildung 17 und Abbildung 18). Auf der PDA-Platte mit *V. dahliae* gab es eine Kontamination mit einem rosafarbigem Bakterium. Das Myzel des Pilzes war jedoch neben den Hirsekörnern erkennbar.



Abbildung 17: Hirseinokulat mit *R. solani* auf Malzagar-Medium



Abbildung 18: Hirseinokulat mit *V. dahliae* auf PDA-Medium

Die Kotpellets vom 2. April 2020 wurden vor der Anwendung gemahlen. Der Mehlwurm-Frass (Abbildung 19) wurde ohne vorherige Behandlung ins Substrat gemischt. Zudem wurde der Mehlwurm-Frass frisch aus der Insektenproduktion entnommen und hatte ein Alter von ca. 1–2 Wochen.



Abbildung 19: Mehlwurm-Frass



Abbildung 20: Befüllte Plastiktöpfe mit Substrat

Das Substrat wurde in Plastiktöpfe mit 15 cm Durchmesser und 1.2 Liter Fassungsvermögen gefüllt (Abbildung 20). Danach wurde das Substrat auf Feldkapazität gewässert. Die Positivkontrolle wurde

daraufhin mit «Trianum-P» behandelt, wobei die Sporenlösung nach der Herstelleranweisungen zur Anwendung für Stecklinge angemischt wurde und eine Sporenkonzentration von 3×10^5 pro ml ergab.



Abbildung 21: Anordnung der Töpfe in der Klimakammer

Pro Topf wurde ein Kopfsalatsetzling gepflanzt und die Töpfe wurden direkt nach der Pflanzung in den Klimaraum auf ca. 1 m Höhe platziert (Abbildung 21). Die zehn Wiederholungen pro Variante lagen beieinander. Jeder Topf wurde zur Bewässerung auf einen Unterteller gestellt. Je nach Bedarf wurden die Pflanzen ein- bis zweimal pro Woche gewässert. Die Anordnung der verschiedenen Varianten wurde in der Klimakammer jede Woche einmal umgestellt und randomisiert.

Die Bedingungen für den Kopfsalat wurden am Anfang auf 23°C Raumtemperatur und 60% Luftfeuchtigkeit eingestellt.

Die Photoperiode betrug 16 Stunden mit Absenkung der Temperatur auf 15 °C während der Dunkelphase. Die Lichtintensität betrug zwischen 100 und 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die Beleuchtung bestand aus zwei vorinstallierten Natriumdampflampen (Spezifikationen nicht bekannt), welche mit zwei 400-Watt-Pflanzenleuchten des Typus PF400S ergänzt wurden. Von der 3. Woche an wurden die vorinstallierten Lampen durch zwei weitere Pflanzenleuchten ersetzt, um die Bedingungen zu vereinheitlichen. Nach fünf Wochen wurde die Temperatur auf 19°C und 11°C während der Dunkelphase eingestellt.

3.5 Messung der Substrateigenschaften

3.5.1 Trockengehalt

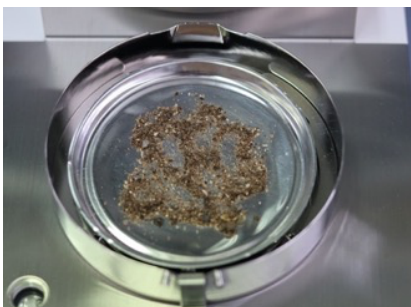


Abbildung 22: Bestimmung des Trockengehalts von Substrat

Der Trockengehalt wurde mit dem HC-103-Moisture-Analyzer von «Mettler Toledo» ermittelt. Dazu wurde jeweils 1.0 g Substrat auf der Waagschale verteilt (Abbildung 22). Durch die geringe Substratmenge und schnelle Trocknung des Substrats durch das Gerät wird der prozentuale Feuchtgehalt nach nur wenigen Minuten angezeigt.

3.5.2 pH- und EC-Wert

Die Messung des pH- und EC-Werts wurde nach der Referenzmethode der Eidgenössischen landwirtschaftlichen Forschungsanstalten durchgeführt (Anleitung im Anhang). 133 cm³ Substrat

wurde mit 200 ml Reinstwasser gemischt und eine Stunde lang auf dem Laborschüttler bei ca. 120 rpm geschüttelt. Die Suspension wurde daraufhin mit Whatman-Filterpapier (595 ½, 185 mm) in Plastikflaschen filtriert. Der pH-Wert wurde in der Suspension mit der pH-Sonde und der EC-Wert im Filtrat mit der EC-Sonde des portablen HQ40D-2-Kanal-Multimeters gemessen.

3.5.3 Analysen durch das Bodenlabor

Die drei verwendeten Substratmischungen im Topfversuch und die drei Frassarten von *T. molitor*, *H. illucens* und FfW wurden an das Bodenlabor von Jardin Suisse zur Analyse der Nährstoffgehalte gesandt. Die P- und K-Gehalte wurden im Ammoniumacetat-EDTA-Extrakt ermittelt. Bei hohen pH-Werten kann mit dieser Methode beispielsweise der P-Wert genauer bestimmt werden (Carlen et al., 2020). Die anderen Nährstoffgehalte (NO_3 , NH_4 , Ca und Mg) wurden im 1:1.5-Volumenextrakt gemessen. Alle Werte wurden in millimol/l Extrakt angegeben. Die NO_3 -, P_2O_5 -, K_2O - und Mg-Werte wurden zusätzlich in mg/l Substrat umgerechnet. Der EC- und der pH-Wert wurden ebenfalls durch das Bodenlabor bestimmt. Vor den Messungen wurde keine Trocknung des Substrats und des Frasses vorgenommen. Die Messwerte beziehen sich deshalb auf die Feuchtmasse.

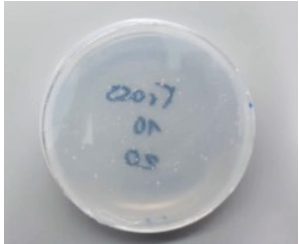
3.6 Bestimmung der CFU von chitinolytischen Mikroorganismen



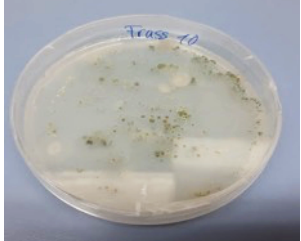

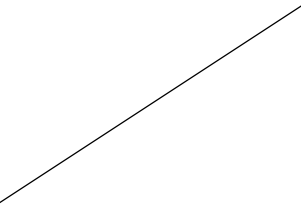
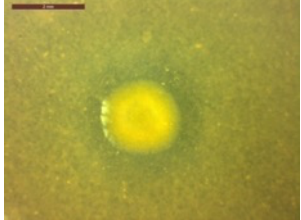
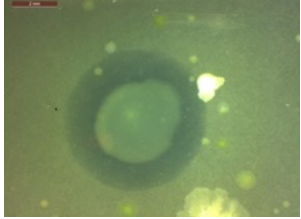
3.6.1 Herstellung von Chitinagar

Zur Bestimmung der Anzahl chitinolytischer Mikroorganismen im Substrat wurden fünf verschiedene Rezepte ausprobiert (Tabelle 7) und mehrere Versuche, kolloidales Chitin herzustellen, durchgeführt. Zur Kontrolle wurden Substratproben aus den Kresstests oder des Topfversuchs ausplattiert. Die Petrischalen wurden danach mehrere Tage bei 30°C inkubiert.

Erst beim Agar-Rezept Nr. 5 konnten helle Zonen um die Kolonien als Zeichen für Chitinaseaktivität beobachtet werden.

Tabelle 7: Verwendete Agar-Rezepte zur Auszählung von chitinolytischen Mikroorganismen

Agar	Rezept	Quelle	Abbildung
1	0.5 g KCl, 1.0 g K_2HPO_4 , 0.5 g MgSO_4 , 0.01 g FeSO_4 , 1.0 g Chitin , 15.0 g Agar, 1000 ml Reinstwasser (pH 7.0), entweder 100 mg Streptomycin und 50 mg Chloramphenicol oder 100 mg Cycloheximid	Prauser (1976)	

2	6.0 g Na ₂ HPO ₄ , 3.0 g KH ₂ PO ₄ , 1.0 g NH ₄ Cl, 0.5 g NaCl, 0.05 g Hefeextrakt, 15.0 g Agar, 10 g kolloidales Chitin (Versuch Nr. 1, Abschnitt 3.6.2) , 1000 ml Reinstwasser und 50 ml 1-M-Natronlauge, entweder 100 mg Streptomycin und 50 mg Chloramphenicol oder 100 mg Cycloheximid	Salas-Ovilla et al. (2019)	 
3	1.0 g NaCl, 2.0 g Chitosan , 0.5 g (NH ₄)SO ₄ , 1.0 g MgSO ₄ , 0.5 g K ₂ HPO ₄ , 0.01 g ZnSO ₄ ·7H ₂ O, 0.001 g FeSO ₄ , 0.01 g CaCl ₂ ·2H ₂ O, 0.0086 g MnSO ₄ ·7H ₂ O, 20.0 g Agar und 1000 ml Reinstwasser, entweder 100 mg Streptomycin und 50 mg Chloramphenicol oder 100 mg Cycloheximid	Mota & dos Santos (2016)	 
4	6.0 g Na ₂ HPO ₄ , 3.0 g KH ₂ PO ₄ , 1.0 g NH ₄ Cl, 0.5 g NaCl, 0.05 g Hefeextrakt, 15.0 g Agar, 10 g kolloidales Chitin (Versuch Nr. 2, Abschnitt 3.6.2) und 1000 ml Reinstwasser	Salas-Ovilla et al. (2019)	
5	6.0 g Na ₂ HPO ₄ , 3.0 g KH ₂ PO ₄ , 1.0 g NH ₄ Cl, 0.5 g NaCl, 0.05 g Hefeextrakt, 15.0 g Agar, 10 g kolloidales Chitin (Versuch Nr. 3, Abschnitt 3.6.2) und 1000 ml Reinstwasser	Salas-Ovilla et al. (2019)	 

3.6.2 Herstellung von kolloidalem Chitin

Versuch Nr.1:

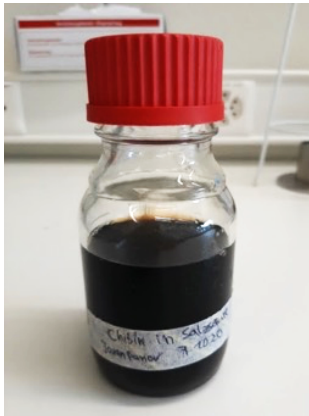


Abbildung 23: 10 g Chitin
in 100 ml 32% HCl nach
24 h

Beim ersten Versuch kolloidales Chitin herzustellen, wurde nach der beschriebenen Methode von Salas-Ovilla (2019) vorgegangen. 10 g Chitin von Shrimpsschalen wurden in 100 ml 32% HCl gelöst und 24 h bei 4 °C gelagert (Abbildung 23). Die Lösung wurde daraufhin mit 70 ml Reinstwasser gemischt und mit Whatman-Nr.1-Papier filtriert. Der Filter wurde dreimal mit insgesamt 30 ml Reinstwasser nachgespült. Das Filtrat wurde bis zum Gebrauch bei 5 °C gelagert.

Versuch Nr.2:

Das kolloidale Chitin wurde auf zwei Arten nach den modifizierten Methoden von Gómez Ramírez et al. (2004) in Kombination mit Murthy & Bleakley (2012) und nach Souza et al. (2009) hergestellt. 10 g Chitin von Shrimpsschalen wurde in 100 ml 37% HCl gelöst (Abbildung 24, Abbildung 25) und für eine Stunde lang alle fünf Minuten umgerührt. Danach wurde die Lösung durch Glaswolle filtriert



Abbildung 24: Lösungsvorgang von
Chitin in 37% HCl



Abbildung 25: Chitin in 37% HCl
komplett aufgelöst



Abbildung 26: 50 ml Chitin-HCl
Lösung in 200 ml eisgekühltem 50%
Ethanol

Je 50 ml des Filtrats wurden in 1000 ml eisgekühltes Reinstwasser (Gómez Ramírez et al., 2004; Murthy & Bleakley, 2012) und in 200 ml eisgekühltes 50%iges Ethanol gegeben (Souza et al., 2009). Beim Einfüllen wurde stark umgerührt, um das Chitin auszukristallisieren, wobei das Gemisch eine milchige Farbe und eine höhere Viskosität erhielt (Abbildung 26).

Das kolloidale Chitin in 50%igem Ethanol wurde daraufhin mit Whatman-Nr.1-Filterpapier filtriert. Das in Wasser dispergierte kolloidale Chitin wurde vor der Filtration über Nacht bei 5°C

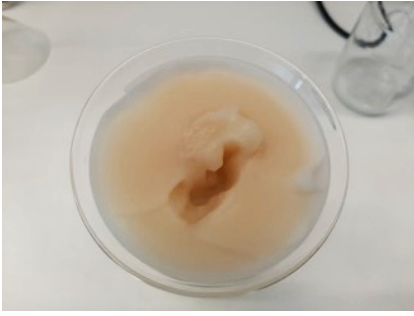


Abbildung 27: Sediment des filtrierten kolloidalen Chitins

gelagert. Das Sediment hatte nach der Filtration die Konsistenz einer Paste (Abbildung 27) und etwa den pH-Wert von 1. Überschüssiges Wasser wurde zwischen zwei Lagen Milchfilter ausgedrückt. Das Chitin wurde in einem Plastikbehälter bis zum Gebrauch bei 5 °C gelagert.

Versuch Nr.3:



Abbildung 28: Filtration des Chitins mit Absaugtrichter

Beim 3. Versuch kolloidales Chitin herzustellen, wurden 20 g Chitin in 200 ml 37% HCl gelöst und nach der Filtrierung durch Glaswolle und Lagerung über Nacht bei 5 °C in 2 l Reinstwasser auskristallisiert. Die Filtration wurde mit einem Absaugtrichter unter Vakuum durchgeführt (Abbildung 28), womit die Rückgewinnung des kolloidalen Chitins beschleunigt werden konnte. Das Sediment wurde periodisch vom Whatman-Nr.1-Filterpapier abgekratzt. Um den pH-Wert auf 7 zu erhöhen, wurde nach Rodriguez-Kabana et al. (1983) das kolloidale Chitin in 2 l Hahnenwasser resuspendiert und durch Filtration zurückgewonnen. Der Vorgang wurde zweimal mit 2 l Hahnenwasser und zum Schluss mit 1 l Reinstwasser durchgeführt. Der pH-Wert des kolloidalen Chitins betrug schlussendlich 6.9–7.0. Der Feuchtgehalt betrug 78.46%. Es konnten ca. 45 g feuchtes kolloidales Chitin gewonnen werden, welches direkt für die Herstellung von Chitinagar und für das Chitinase-Assay mit DNSA verwendet wurde.

3.6.3 Kolonienzählung

Herstellung der Verdünnungsreihen

0.5 g der Probe (Probenahme beschrieben in 3.7.1: Zubereitung des Substrat-Enzymextrakts) wurde in einen 50-ml-Tube übertragen und mit ca. 50 ml sterilem Reinstwasser auf dem Vortexmischer kurz gemixt. Die Proben wurden daraufhin auf dem Laborschüttler in horizontaler Lage eine Stunde lang geschüttelt. Die Verdünnungen wurden in 1.5-ml-Eppendorf-Tubes und 0.9% NaCl hergestellt. 100 µl der 100- und 1000-fachen Verdünnungen wurden schliesslich auf dem Agar übertragen und mit einem Drigalskispatel gleichmässig verteilt. Die Agarplatten wurden bei 30°C inkubiert und täglich auf das Wachstum von Kolonien kontrolliert.

Auszählung der Kolonien

Nach 4–5 Tagen Inkubation bei 30°C wurden die Kolonien mit Aufklärungszone als Zeichen für eine chitinolytische Aktivität gezählt. Bei Testmessungen der Substratproben von Probenahme Nr. 1 konnten die 100- und 1000-fache Verdünnung als am geeignetsten für die Auszählung der Kolonien bestimmt werden (Abbildung 29 und Abbildung 30). Für die statistische Auswertung wurde die höhere Anzahl an Kolonien verwendet, wenn eine exakte Zählung möglich war.

Berechnungsformel:

$$\frac{\text{Kolonienanzahl} \cdot \text{Verdünnung} \cdot 50 \text{ ml Wasser}}{0.5 \text{ g feuchtes Substrat}} = \text{CFU/g ungetrocknetes Substrat}$$

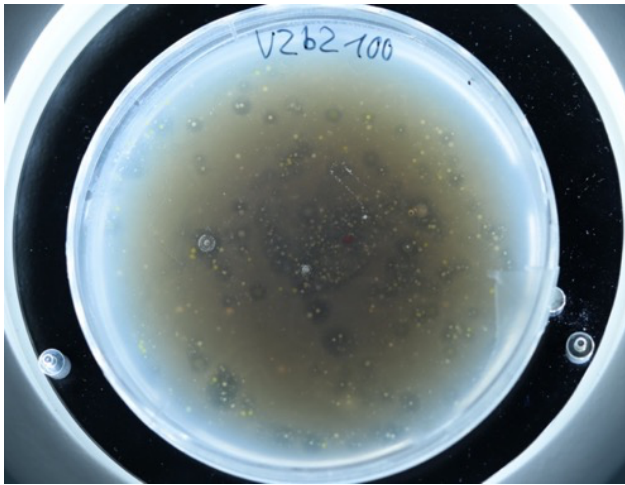


Abbildung 29: 100-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar

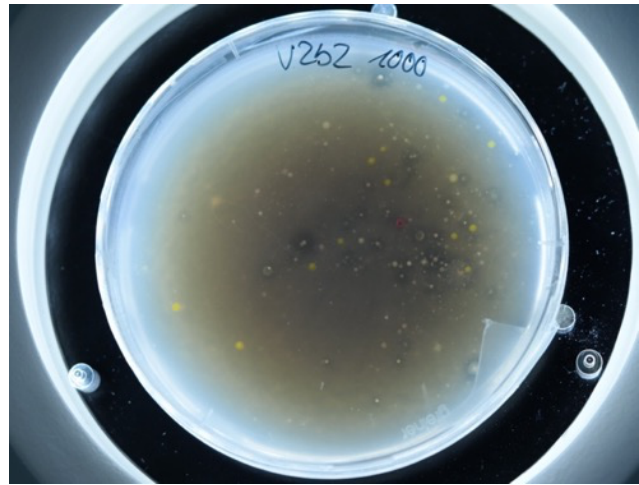


Abbildung 30: 1000-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar

Auf der 10'000-fachen Verdünnung wurden bei allen Varianten kaum entsprechende Mikroorganismen festgestellt (Abbildung 31), während sich die Kolonien auf der 10-fachen Verdünnung für eine exakte Auszählung zu stark überlagerten (Abbildung 32).

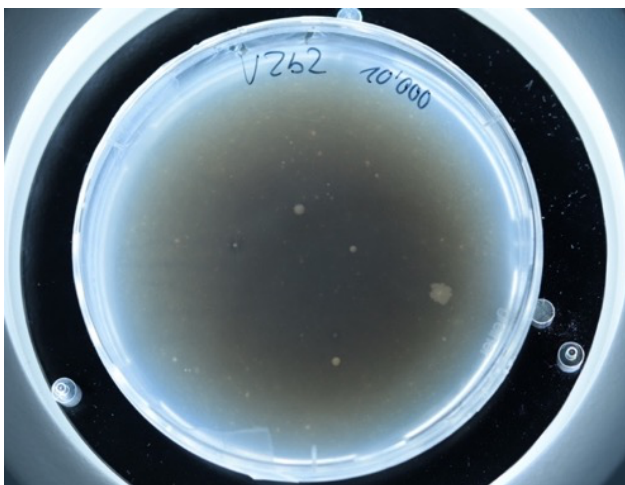


Abbildung 31: 10'000-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar

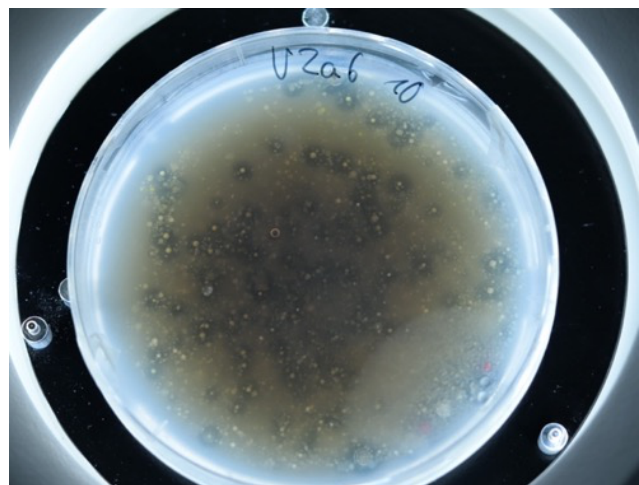


Abbildung 32: 10-fache Verdünnung der Probe V2a6 des Topfversuchs auf Chitinagar

3.7 Chitinase-Assay

3.7.1 Chitinase-Assay-Kit

Das Chitinase-Assay-Kit mit der Katalognummer CS0980 von Sigma-Aldrich wurde verwendet, um die Aktivität von Endochitinase in der Pflanze und von Exochitinase im Substrat zu messen. Im Kit enthalten waren drei Chitinasubstrate, welche die Messung von drei verschiedenen Chitinaseaktivitäten ermöglichen:

- 1 mg von 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-Triacetylchitotriose (Endochitinase-Aktivität)
- 5 mg von 4-Nitrophenyl N, N'-Diacetyl- β -D-Chitobioside (Chitobiosidase-Aktivität, Exochitinase)
- 10 mg von 4-Nitrophenyl N-Acetyl- β -D-Glucosaminide (β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität, Exochitinase)

1 mg des Substrats gelöst in 1 ml 50mM-Acetat-Puffer (pH 5.0) reichte für die Messung von 10 Proben aus. Nach Angaben des Herstellers kann 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-Triacetylchitotriose auch in geringerer Konzentration von 0.5 mg in 1 ml Assay-Puffer verwendet werden, weshalb von 20 Pflanzenproben die Endochitinase-Aktivität gemessen werden konnten.

Zubereitung des Pflanzen-Enzymextrakts

Von den Varianten V1b, V2b, K1b, K2 und K3b wurde jeweils von vier Pflanzen das jüngste entfaltete Blatt entnommen. Die Zubereitung des Enzymextrakts für die Endochitinase-Messung wurde nach Mota & dos Santos (2016) vorgenommen. 1 g des Blattes wurde mit 4 ml 100mM-Acetat-Puffer (pH 5) im Mörser zerrieben (Abbildung 33 und Abbildung 34). Von Variante V2b wurde 0.5 g Pflanzenmaterial mit 2 ml Puffer verarbeitet, da durch das geringe Pflanzenwachstum nicht genügend Pflanzenmaterial vorhanden war. 1 ml des Extrakts wurde in 1.5 ml-Eppendorf-Tubes gefüllt und daraufhin 25 Min. bei 13400 g zentrifugiert (Abbildung 35). Die Tubes wurden bis zur Verwendung bei -20 °C gelagert oder direkt verwendet.

Zubereitung des Pflanzen-Enzymextrakts

Von den Varianten V1b, V2b, K1b, K2 und K3b wurde jeweils von vier Pflanzen das jüngste entfaltete Blatt entnommen. Die Zubereitung des Enzymextrakts für die Endochitinase-Messung wurde nach Mota & dos Santos (2016) vorgenommen. 1 g des Blattes wurde mit 4 ml 100mM-Acetat-Puffer (pH 5) im Mörser zerrieben (Abbildung 33 und Abbildung 34). Von Variante V2b wurde 0.5 g Pflanzenmaterial mit 2 ml Puffer verarbeitet, da durch das geringe Pflanzenwachstum nicht genügend Pflanzenmaterial vorhanden war. 1 ml des Extrakts wurde in 1.5 ml-Eppendorf-Tubes gefüllt und daraufhin 25 Min. bei 13400 g zentrifugiert (Abbildung 35). Die Tubes wurden bis zur Verwendung bei -20 °C gelagert oder direkt verwendet.



Abbildung 33: Pflanzenmaterial im Mörser mit Acetat-Puffer



Abbildung 34: Gemörsertes Pflanzenmaterial mit Acetat-Puffer

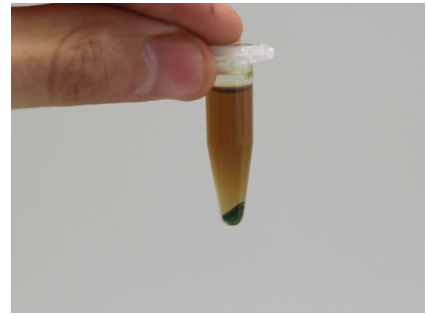


Abbildung 35: Zentrifugiertes Enzymextrakt der Pflanzenprobe

Zubereitung des Substrat-Enzymextrakts

Für die Messung der Chitinaseaktivität im Substrat wurde mithilfe eines Zylinders mit 15 mm Durchmesser Substrat im Wurzelraum von fünf Töpfen pro Variante entnommen und in einem 50 ml-Tube homogenisiert. Die Zubereitung des Enzymextrakts wurde nach Rafferty et al. (2003) vorgenommen. Zu 1 g der Erdproben wurden 0.2 ml Toluol und 5 ml 0.5 M-Acetat-Puffer (pH 5.0) in 15 ml-Tubes gegeben und kurz auf dem Vortex-Mischer geschüttelt. Die Zugabe von Toluol bei der Enzymextraktion wies bei Testmessungen keinen Einfluss auf die Enzymaktivität auf. Die Tubes wurden daraufhin eine Stunde lang auf dem Laborschüttler geschüttelt. Ca. 1 ml des Extrakts wurde in 1.5 ml-Eppendorf-Tubes gegeben und 30 Min. bei 13400 g zentrifugiert. Die Proben wurden direkt für den Test verwendet oder bei -20 °C gelagert.

Durchführung des Tests

Die drei verschiedenen Chitinasesubstrate wurden in je einen 15 ml-Tube gegeben und in 50mM-Acetat-Puffer gelöst. Das Mischungsverhältnis betrug bei der Endochitinase 1 mg Substrat in 2 ml Puffer und bei der Exochitinase 1 mg Substrat in 1 ml Puffer. Die Tubes wurden eine Stunde horizontal auf dem Laborschüttler geschüttelt, bis alles aufgelöst war. Zuerst wurde die Substrat- sowie die Standardlösung (5 µl p-Nitrophenol in 995 µl Stopplösung) wenige Minuten bei 37°C aufgewärmt und danach in die entsprechenden Näpfchen pipettiert. In Abbildung 36 und Abbildung 37 sind die Schemen ersichtlich, wie die Reagenzien und Enzymextrakte in die Titerplatte pipettiert wurden. Pro Chitinasesubstrat wurde eine 96-Well-Titerplatte verwendet. Nachdem das Enzymextrakt und das Kontrollenzym von *Trichoderma viride* in die Substratlösung pipettiert waren, wurden die Platten auf dem Laborschüttler kurz geschüttelt und danach eine halbe Stunde bei 37°C inkubiert. Um die Reaktion zu stoppen, wurden 200 µl Stopplösung (2% Natriumcarbonat in Reinstwasser, w/v) hinzugefügt und innerhalb von einer halben Stunde wurde die Absorption bei 405 nm mit dem Mikrotiterplattenleser «Tecan Infinite 200 Pro» gemessen. Eine Einheit von Chitinaseaktivität wurde als µmol freigesetzten p-Nitrophenols pro min und ml Enzymextrakts definiert (Formel im Anhang, Datenblatt Assay-Kit).

Standard

300 µl Standardlösung

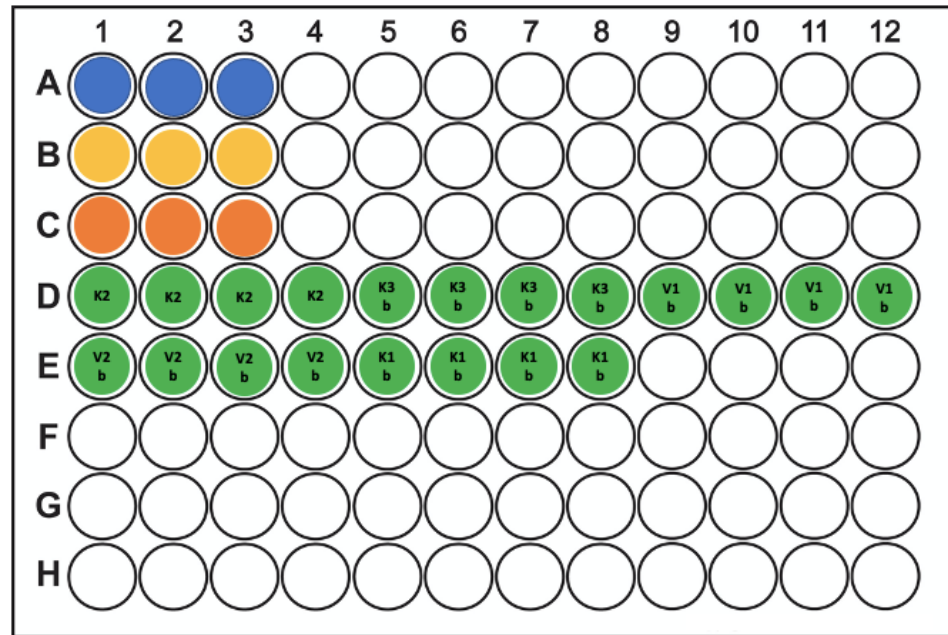
Blank100 µl Substratlösung +
200 µl Stopflösung**Positivkontrolle**90 µl Substratlösung +
10 µl Kontrollenzym +
200 µl Stoplösung**Probe**90 µl Substratlösung +
10 µl Enzymextrakt +
200 µl Stoplösung

Abbildung 36: Schema der 96-Well-Titerplatte für die Messung der Endochitinase-Aktivität mit 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-Triacetylchitotriose als Chitinase-Substrat

Standard

300 µl Standardlösung

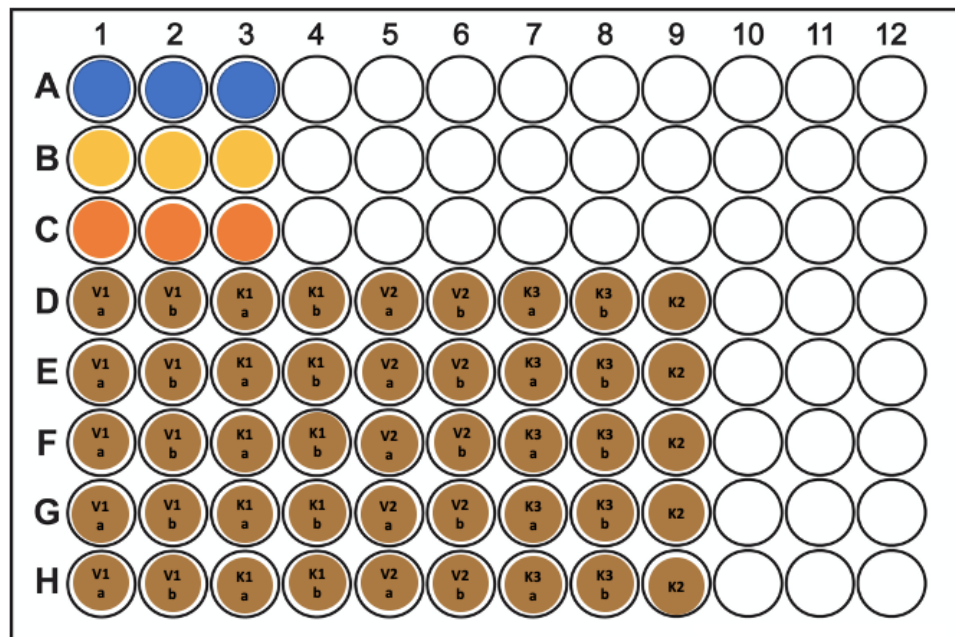
Blank100 µl Substratlösung +
200 µl Stopflösung**Positivkontrolle**90 µl Substratlösung +
10 µl Kontrollenzym +
200 µl Stoplösung**Probe**90 µl Substratlösung +
10 µl Enzymextrakt +
200 µl Stoplösung

Abbildung 37: Schema der 96-Well-Titerplatte für die Messung der Exochitinase-Aktivität mit Nitrophenyl N-Acetyl- β -D-Glucosaminide oder 4-Nitrophenyl N,N'-Diacetyl- β -D-Chitobioside als Chitinase-Substrat

Die Messung der Endochitinase-Aktivität der Pflanzenproben und die Messung der Chitobiosidase-Aktivität wurden nur für die Probenahme nach zwei Wochen durchgeführt, da die zur Verfügung gestellten Mengen an Chitinasubstrat im Assay-Kit nicht für weitere Messungen ausreichen. Für die Messung der Chitinaseaktivität im Substrat am Anfang und nach fünf Wochen wurde die β -N-

Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität gemessen. Der Preis von zusätzlichen 100 mg an entsprechendem Chitinase-Substrat war vergleichsweise günstig. Der Preis für 100 mg 4-Nitrophenyl N-Acetyl- β -D-Glucosaminide, womit 1000 Messungen möglich sind, lag zum jeweiligen Zeitpunkt bei 63.40 CHF. Weitere 5 mg an 4-Nitrophenyl N,N'-Diacetyl- β -D-Chitobioside, womit 50 Messungen möglich sind, kosten im Vergleich dazu 324.00 CHF und die Kosten für 1 mg 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-Triacetylchitotriose für die Messung der Endochitinase betragen 263.00 CHF (Sigma-Aldrich, 2020).

3.7.2 Chitinase-Assay mit Dinitrosalicylsäure (DNSA)



Abbildung 38: Dinitrosalicylsäure

Es wurde die von Miller (1959) entwickelte Methode zur Messung von reduzierten Zuckern mittels Dinitrosalicylsäure (DNSA) verwendet. Die DNSA wurde nach der Methode von Saqib & Whitney (2011) hergestellt: Für 100 ml wurden unter ständiger Rührung und leichter Erhitzung 1.0 g 3.5-Dinitrosalicylsäure zu 80 ml 0.5 M NaOH hinzugegeben. Nachdem die 3.5-Dinitrosalicylsäure aufgelöst war, wurden 30 g Kalium-Natriumtartrat-Tetrahydrat hinzugegeben (Abbildung 38).

Das Reagenz kann bei Raumtemperatur sechs Monate lang gelagert werden (Hussin & Ab Majid, 2020).

Chitinaseaktivität der Pflanzen

Nach der modifizierten Methode von Baiyee et al. (2019) wurde die Chitinaseaktivität der Pflanzen gemessen. Bei der Herstellung des Enzymextrakts wurde wie in Abschnitt 3.7.1 vorgegangen.

250 μ l 50mM-Acetat-Puffer (pH 5.0) und 250 μ l 1.5% kolloidales Chitin wurden in einen 2 ml-Eppendorf-Tube gegeben und daraufhin wurden 250 μ l des Enzymextrakts hinzugefügt. Die Tubes wurden auf dem Vortex gemischt und eine Stunde bei 37 °C inkubiert. Nach der Zugabe von 750 μ l DNSA wurden die Tubes 15 Min. lang in kochendem Wasser bei ca. 90 °C erhitzt (Abbildung 39) und danach auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Tubes wurden vor der Messung im Spektrophotometer 5 Min. lang bei 12000 rpm zentrifugiert. Die Absorption wurde bei 575 nm gemessen. Die Konzentration von N-Acetylglucosamin in der Lösung wurde mit einer Standardkurve von N-Acetylglucosamin berechnet (Abbildung 41).



Abbildung 39: Erhitzung der Proben in kochendem Wasser

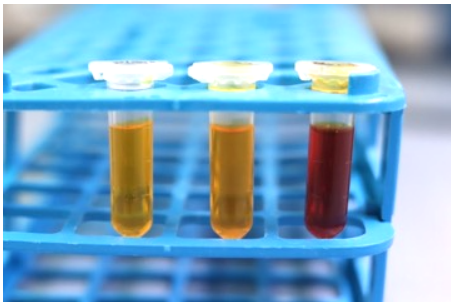


Abbildung 40: Proben nach dem Kochen; von links nach rechts: Blank, Chitinase-Enzym von *T. viride*, Pflanzen-Enzymextrakt

Zu jeder Probe wurde ein Duplikat angefertigt, welches nicht inkubiert wurde. Damit konnte die Konzentration von reduzierenden Zuckern in der Pflanze bestimmt und vom Absolutwert abgezogen werden, womit die reine Chitinaseaktivität bestimmt wurde. In Abbildung 40 ist im rechten Tube die starke Rotfärbung der Pflanzenprobe nach dem Kochen mit DNSA zu erkennen, was vermutlich durch die hohe Grundkonzentration an reduzierenden Zuckern im Pflanzenmaterial zu erklären ist.

Eine Einheit von Chitinaseaktivität wurde als μmol freigesetzten N-Acetylglucosamins pro min und ml Enzymextrakt definiert:

$$\text{Chitinaseaktivität / min / ml} = \frac{\mu\text{Mol N-Acetylglucosamin in 1.5 ml Lösung}}{60 \text{ min} \times 0.25 \text{ ml Enzymextrakt}}$$

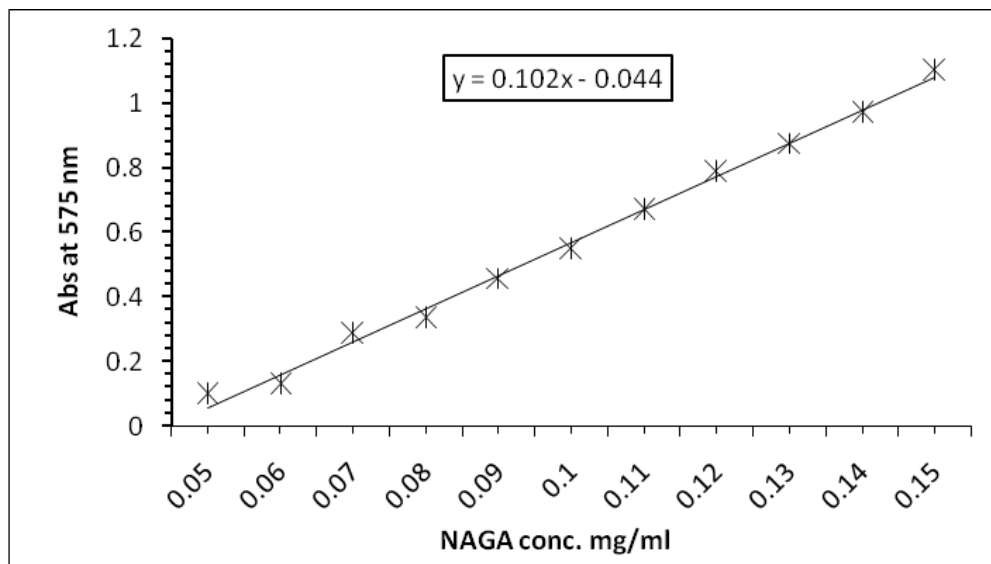


Abbildung 41: Standardkurve von N-Acetylglucosamin bei 575 nm gemessen mit der DNSA-Methode (Eldin, 2009)

Chitinaseaktivität im Substrat

Bei der Bestimmung der Chitinaseaktivität im Substrat wurde wie bei der Bestimmung der Aktivität der Pflanzenchitinase vorgegangen. Bei der Herstellung des Enzymextrakts wurde wie in Abschnitt 3.7.1 vorgegangen. Die Absorption wurde mit einem Spektrophotometer bei 540 nm gemessen. Die

Konzentration des N-Acetylglucosamins in der Lösung wurde mit einer Standardkurve von N-Acetylglucosamin berechnet (Abbildung 41). Eine Einheit von Chitinaseaktivität wurde als μmol freigesetzten N-Acetylglucosamins pro min und ml Enzymextrakt definiert:

$$\text{Chitinaseaktivität / min / ml} = \frac{\mu\text{Mol N-Acetylglucosamin in 1.5 ml Lösung}}{60 \text{ min} \times 0.25 \text{ ml Enzymextrakt}}$$

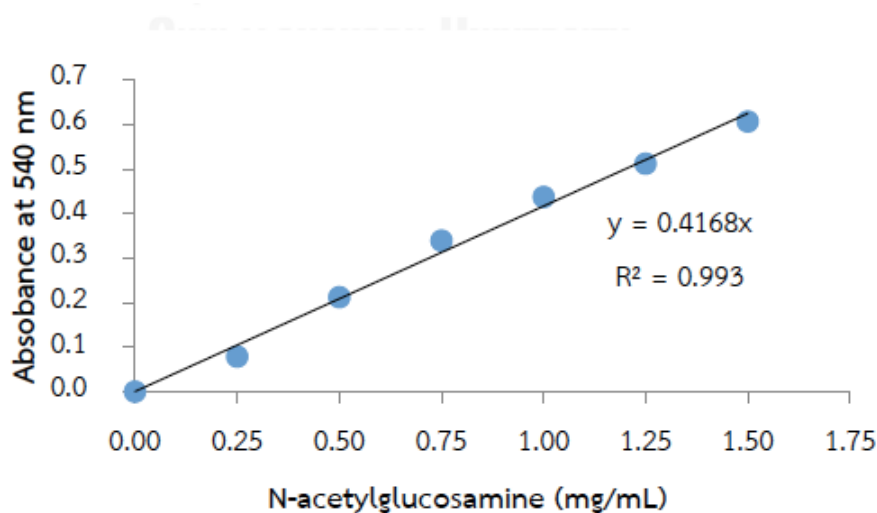


Abbildung 42: Standardkurve von N-Acetylglucosamin bei 540 nm gemessen mit der DNSA-Methode (Saraihom, 2015)

3.7.3 Evaluation des Pflanzenwachstums und des Krankheitsbefalls

Nach vier, sechs und acht Wochen wurden von sechs zufällig ausgewählten Pflanzen pro Variante alle komplett entfalteten Blätter gezählt, um die Wachstumsunterschiede zwischen den Varianten zu beurteilen.

Am Schluss des Topfversuchs wurde von drei repräsentativen Pflanzen pro Variante das Substrat von den Wurzeln ausgewaschen und der oberirdische Teil abgetrennt. Die Frischmasse und Trockenmasse der Wurzeln und des Sprosses wurden separat bestimmt. Das Pflanzenmaterial wurde 48 Stunden bei 60°C getrocknet. Bei jeder Pflanze wurde die Hauptwurzel längs aufgeschnitten, um Verfärbungen des Leitsystems, welche durch den Pilz hervorgerufen wurden, zu begutachten.

3.8 Statistik

Die Normalverteilung wurde durch die visuelle Betrachtung der Boxplots oder des Q-Q-Plots der Daten in Kombination mit dem Shapiro-Wilk-Test beurteilt. Das Testen auf Varianzhomogenität mehrerer Varianten wurde durch den Levene-Test vorgenommen. Waren die Daten normalverteilt und die Varianzen homogen, wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) angewandt, um einen möglichen signifikanten Einfluss der Behandlungen feststellen zu können. Waren signifikante Unterschiede vorhanden, wurden sie mit dem Post-hoc-Verfahren Tukey-HSD sichtbar gemacht. Um die Werte zweier Varianten zu vergleichen, wurde ein t-Test durchgeführt.

Gab es eine starke Abweichung der Normalverteilung, aber die Varianzen waren homogen, wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Gab es signifikante Unterschiede, wurde nach dem Kruskal-Wallis-Test der Dunn-Post-hoc-Test eingesetzt, um die Unterschiede zwischen den Varianten aufzuzeigen. Bei sinnvoller Anwendung wurden die Daten mit dem 10er Logarithmus transformiert, um sie für eine Varianzanalyse aufzubereiten und damit mehr statistische Power zu gewährleisten. Alle Berechnungen und das Erstellen der Grafiken wurde mit R-Studio Version 1.2.5001 durchgeführt. Es wurden die Packages «tidyverse», «car» und «FSA» verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Kotpellets (FfW) gegen *Pythium ultimum*

4.1.1 Trockengehalt der Substrate

Der Feuchtigkeitsgehalt des FfW-Frasses betrug 35.49%. Die höhere Menge Frass von 20% hatte im Vergleich zu 10% den Trockengehalt nur um ca. 1% gesenkt (Tabelle 8). Die Substratvarianten mit dem Grundsubstrat 2 wiesen eine geringere Trockenmasse als welche mit dem Grundsubstrat 1 auf.

Tabelle 8: Trockengehalt der Substrate von Kresstest 1

	Grundsubstrat 1	Grundsubstrat 2
10% FfW-Frass	90.15% TM	81.62% TM
20% FfW-Frass	89.01% TM	80.74% TM

4.1.2 Höhenwachstum und Überlebensrate ohne Pilz

Die beiden Grundsubstrate 1 und 2 hatten bei den Varianten ohne *P. ultimum* keinen signifikanten Einfluss auf das Höhenwachstum von Kresse. Jedoch hatte der FfW-Frass einen signifikanten Einfluss (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 21.922$, $p < 0.001$, Abbildung 43). Beide Konzentrationen hatten einen signifikanten Einfluss: 10% zu 0% FfW-Frass (Dunn-Test, $z = -2.923$, $p < 0.01$) und 20% zu 0% FfW-Frass (Dunn-Test, $z = -4.629$, $p < 0.001$). Die grössere Effektstärke hatte dabei 20% Frass erzielt (Cohen, 1992; 20% zu 0%: $r = 1.46$, 10% zu 0%: $r = 0.92$). Zwischen 10% und 20% FfW-Frass gab es keine signifikanten Unterschiede. Ohne Inokulation mit *P. ultimum* gab es keinen Befall der Pflanzen.

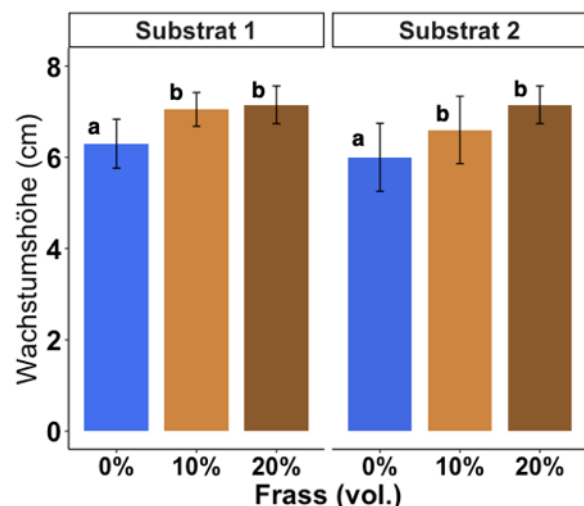


Abbildung 43: Höhenwachstum von Kresse ohne *Pythium ultimum*; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

4.1.3 Höhenwachstum und Überlebensrate mit Pilz

Der Pilz hatte das Höhenwachstum signifikant reduziert (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 62.861$, $p < 0.001$). Mit *P. ultimum* hatte die Wahl des Grundsubstrats 1 oder 2 einen signifikanten Einfluss auf das Höhenwachstum von Kresse (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 8.663$, $p < 0.01$) und der Zusatz von FfW-Frass

hatte das Wachstum ebenfalls signifikant beeinflusst (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 29.065$, $p < 0.001$, Abbildung 44). Die Unterschiede lagen bei 10% zu 0% Frass (Dunn-Test, $z = -4.063$, $p < 0.001$) und 20% zu 0% Frass (Dunn-Test, $z = -5.100$, $p < 0.001$). Die grössere Effektstärke hatte dabei 20% Frass erzielt (Cohen, 1992), 20% zu 0%: $r = 1.61$, 10% zu 0%: $r = 1.28$). Zwischen 10% und 20% FfW-Frass gab es keine signifikanten Unterschiede.

Mit *P. ultimum* hatte keine der beiden Grundsubstrate einen signifikanten Einfluss auf die Überlebensrate. Jedoch hatte der Zusatz von FfW-Frass den Befall signifikant unterdrückt (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 26.043$, $p < 0.001$, Abbildung 45). Die Unterschiede lagen bei 10% zu 0% Frass (Dunn-Test, $z = 3.805$, $p < 0.001$) und 20% zu 0% Frass (Dunn-Test, $z = 3.757$, $p < 0.001$). Die beiden Frass-Konzentrationen hatten dabei dieselbe Effektstärke erzielt (Cohen, 1992; 20% zu 0%: $r = 1.19$, 10% zu 0%: $r = 1.20$). Zwischen 10% und 20% FfW-Frass gab es keine signifikanten Unterschiede.

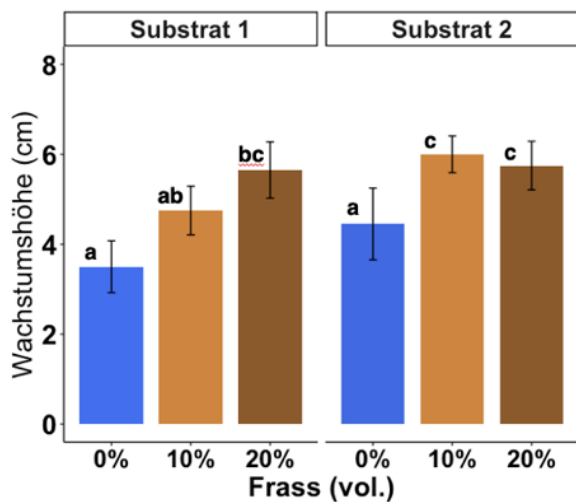


Abbildung 44: Höhenwachstum von Kresse mit *Pythium ultimum*; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

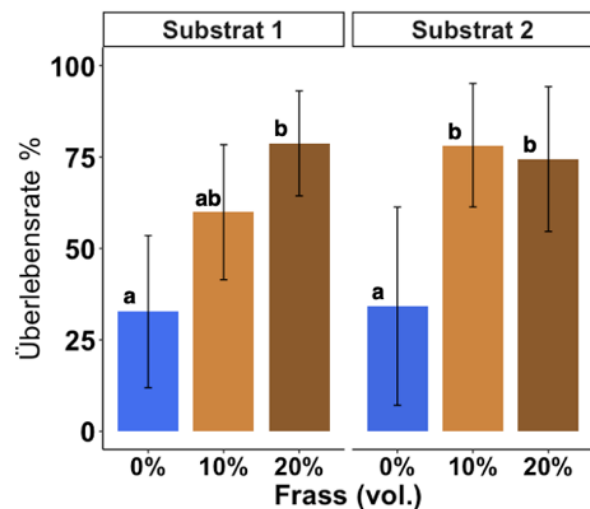


Abbildung 45: Krankheitsbefall von Kresse mit *Pythium ultimum*; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

Das höhere Wachstum und die höhere Überlebensrate der Varianten mit FfW-Frass konnte auch visuell beim Grundsubstrat 1 (Abbildung 46) und Grundsubstrat 2 (Abbildung 47) erkannt werden.

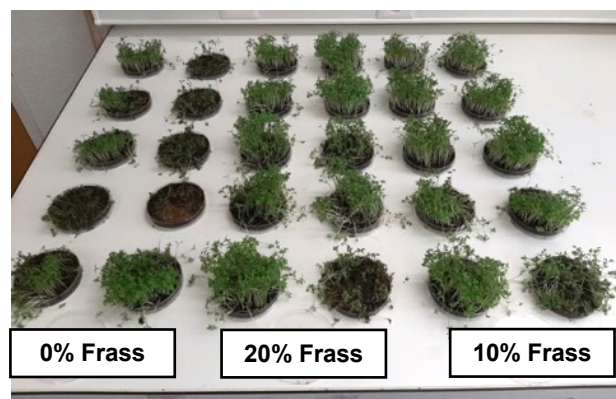
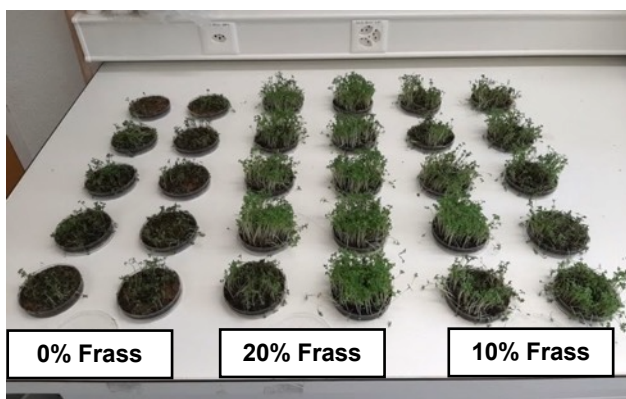


Abbildung 46: Kresstest 1 mit Grundsubstrat 1 und *P. ultimum*

Abbildung 47: Kresstest 1 mit Grundsubstrat 2 und *P. ultimum*

4.2 Kresstest zum Einfluss der Mikroorganismen im Frass gegen *P. ultimum*

4.2.1 Trockengehalt der Substrate

Durch die regelmässige Feuchthaltung des Substrates während der Inkubation von zwei Wochen waren die Trockengehalte der Varianten ohne Inkubation um ca. 20 % höher (Tabelle 9).

Tabelle 9: Trockenmasse der Substratvarianten von Kresstest 2

	20% FfW-Frass	Ohne Frass	Mit <i>T. harzianum</i>
Ohne Behandlung	86.21% TM	88.98% TM	88.98% TM
Inkubation	67.30% TM	71.54% TM	-
Sterilisation	66.46% TM	-	-

4.2.2 Höhenwachstum



Abbildung 48: Varianten K1 und K1P von Kresstest 2

Zwischen den Varianten gab es signifikante Unterschiede im Höhenwachstum (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 49.979$, $p < 0.001$, Abbildung 49). Der Pilz hatte das Höhenwachstum bei der inkubierten Kontrollvariante (K1P) im Vergleich zur Kontrolle (K1) reduziert. Der Unterschied war auch visuell zu erkennen (Abbildung 48).

Mit dem Frass (V1P) wurde das höchste Wachstum unter Einfluss des Pilzes erzielt. Die Inkubation des Substrates mit Frass

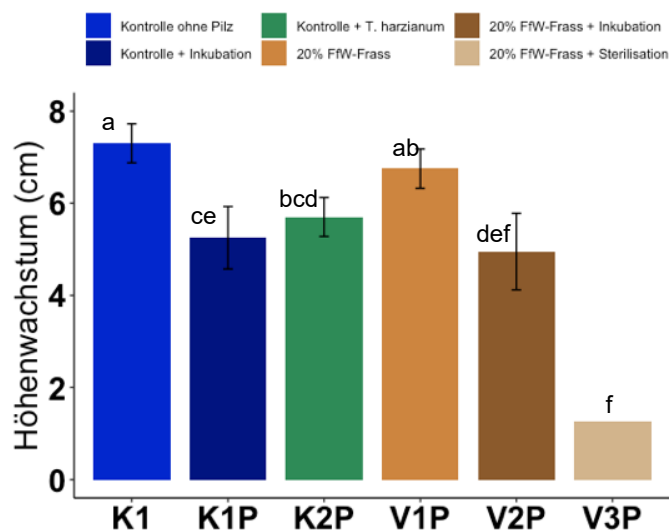


Abbildung 49: Höhenwachstum bei Kresstest 2, Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn Post-hoc-Test.

(V2P) bewirkte im Vergleich dazu ein schwächeres Wachstum. Mit *T. harzianum* (K2P) und der Inkubation des Grundsubstrates (K1P) wurde ein geringeres Wachstum erzielt. Die sterilisierte Frassvariante (V3P) zeigt kaum Wachstum (signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests in Tabelle 10).

Tabelle 10: Signifikante p-Werte und Z-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests des Höhenwachstums bei Kresstest 2

Variante	Z-Wert	p-Wert	Variante	Z-Wert	p-Wert
K1-K1P	3.663	< 0.001	K1P-V3P	2.517	< 0.05
K1-K2P	2.897	< 0.01	K2P-V3P	3.283	< 0.01
K1-V2P	4.008	< 0.001	V1P-V2P	3.148	< 0.01
K1-V3P	6.181	< 0.001	V1P-V3P	5.241	< 0.001
K1P-V1P	-2.723	< 0.05			

4.2.3 Überlebensrate

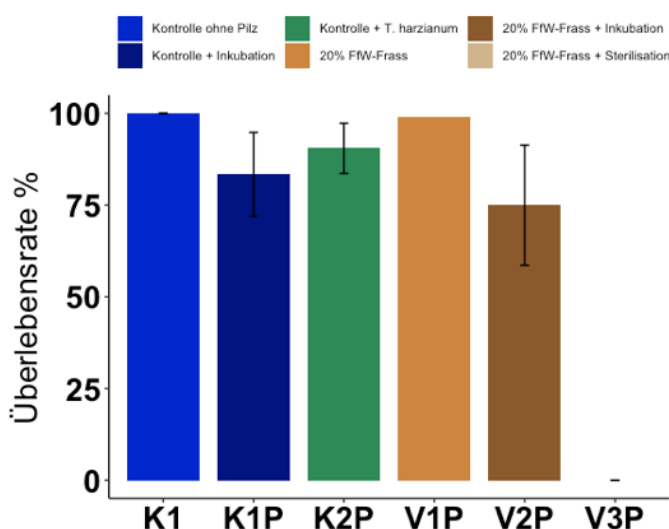


Abbildung 50: Krankheitsbefall bei Kresstest 2

Zwischen den Varianten gab es signifikante Unterschiede im Krankheitsbefall (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 45.696$, $p < 0.001$, Abbildung 50). Bei der sterilisierten Frassvariante (V3P) waren bei jeder Wiederholung die Pflanzen komplett befallen und der Unterschied ist zu allen Varianten signifikant. Im Gegensatz dazu hatte die Kontrolle ohne Pilz (K1) keinen Befall aufzuweisen und unterschied sich ebenfalls zu allen Varianten signifikant mit Ausnahme zur Variante mit Frass (V1P). Die inkubierte Frassvariante (V2P)

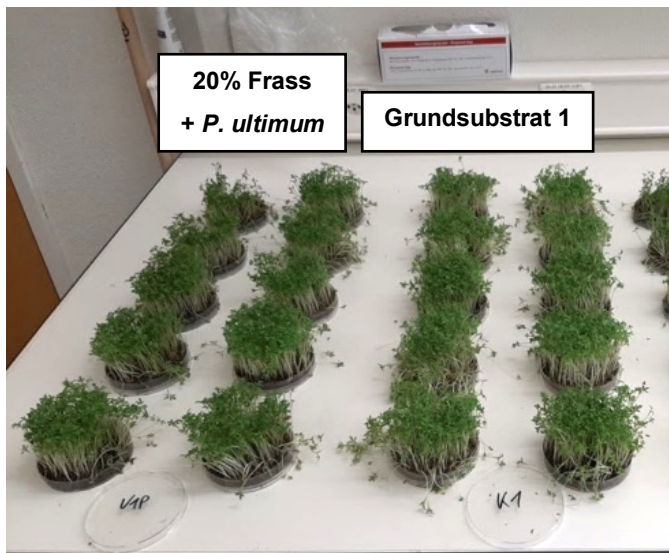


Abbildung 51: Varianten V1P und K1 von Kresstest 2

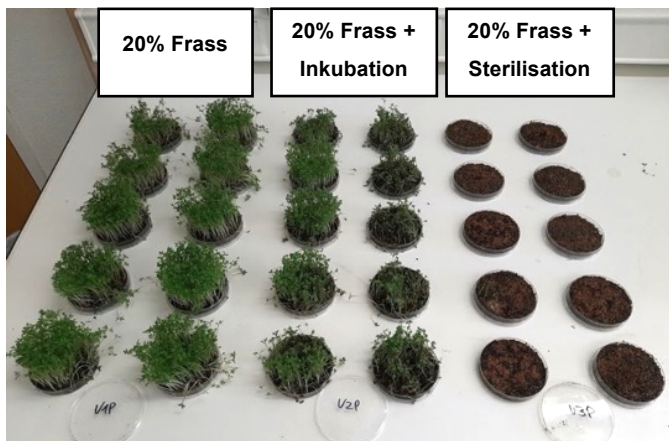


Abbildung 52: Varianten V1P, V2P und V3P von Kresstest 2 mit *P. ultimum*

unterschied sich zur inkubierten Kontrolle (K1P) nicht signifikant. Die Positivkontrolle (K2P) unterschied sich nur im Vergleich zur sterilisierten Frassvariante (V3P) signifikant (signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests sind in Tabelle 11).

Die Variante mit Frass konnte visuell kaum von der Kontrolle ohne Pilz unterschieden werden (Abbildung 51). Die zweiwöchige Inkubation des Substrates brachte keine Verbesserung der Pflanzenschutzwirkung und durch die Sterilisation wurde die Schadwirkung des Pilzes maximiert (Abbildung 52).

Tabelle 11: Signifikante p-Werte und Z-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests des Krankheitsbefalls von Kresstest 2

Varianten	Z-Wert	p-Wert	Varianten	Z-Wert	p-Wert
K1-K1P	-2.915	< 0.01	K1P-V3P	2.517	< 0.01
K1-K2P	-2.152	< 0.05	K2P-V3P	3.597	< 0.01
K1-V2P	-3.370	< 0.01	V1P-V2P	-3.115	< 0.01
K1-V3P	-5.750	< 0.001	V1P-V3P	-5.495	< 0.001
K1P-V1P	2.660	< 0.05	V2P-V3P	-2.380	< 0.05

4.3 Kresstest zur Pflanzenschutzwirkung von Frass dreier Insektenarten gegen *P. ultimum*

4.3.1 Höhenwachstum und Krankheitsbefall

Der Pilz hatte einen signifikanten Einfluss auf das Höhenwachstum (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 16.56$, $p < 0.05$, Abbildung 53). Jedoch war nur bei der Negativkontrolle mit Pilz (K1P) das Wachstum verringert (Dunn-Post-hoc, $p < 0.05$). K1P hatte den stärksten Krankheitsbefall, jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten.

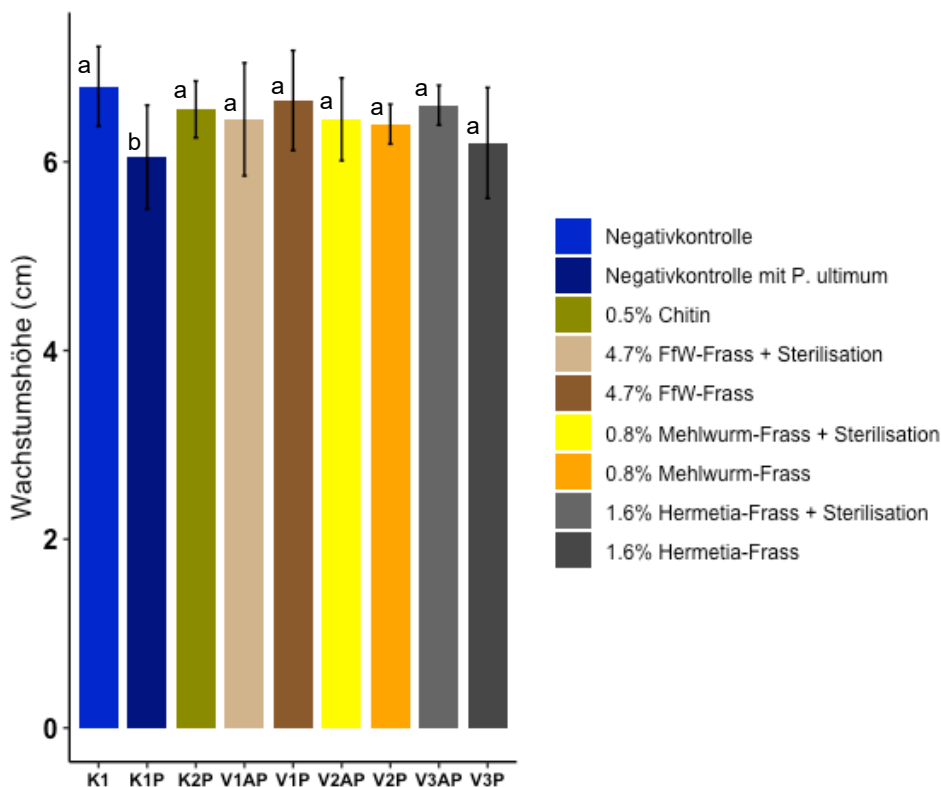


Abbildung 53: Wachstumshöhe von Kresstest 3; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

4.3.2 Chitinaseaktivität und chitinolytische Mikroorganismen im Substrat

Zwischen den Varianten mit Frass gab es signifikante Unterschiede (ANOVA, $F_{5,10} = 5.396$, $p < 0.05$; Abbildung 54). Im Substrat mit Mehlwurm-Frass gab es die grösste Anzahl an chitinolytischen Bakterien mit einer durchschnittlichen Anzahl von 8×10^4 CFU. Die Sterilisation des Frasses hat die Kolonienanzahl auf 3.3×10^4 gesenkt. Bei der Negativkontrolle ohne Frass sowie bei der Positivkontrolle mit Chitin konnten keine chitinolytischen Bakterien festgestellt werden, weshalb sie von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden mussten.

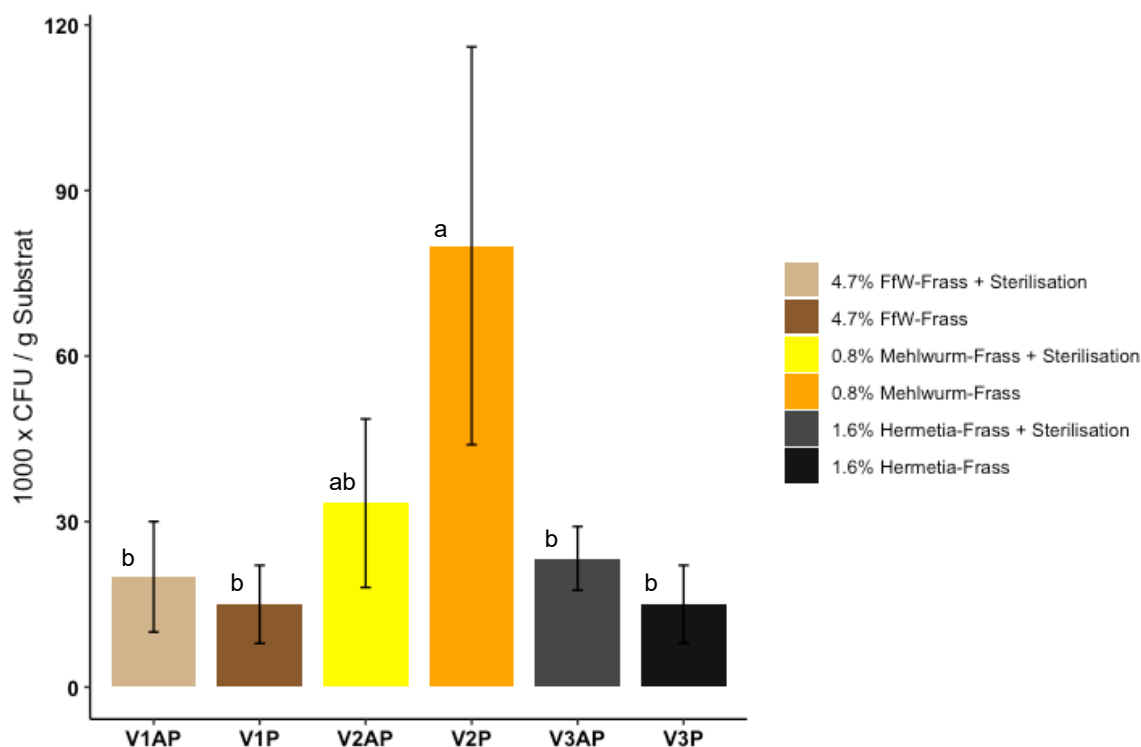


Abbildung 54: Koloniezahln der Varianten mit Frass im Kresstest 3; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

Bei allen Varianten konnte Chitinaseaktivität gemessen werden. Beim Substrat mit Hermetia-Frass (V3P) wurden die höchsten Werte festgestellt. Jedoch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten.

4.4 Topfversuch

4.4.1 Chemische Eigenschaften der Substrate und des Frasses

Die in Tabelle 12 abgebildeten pH- und EC-Werte wurden selber erfasst. Die durch das Bodenzlabor gemessenen Werte wichen nur geringfügig davon ab (Messergebnisse im Anhang). Alle Nährstoffangaben sind auf das Feuchtgewicht des Substrats bezogen und wurden nach der Abwägung eines Liters Substrats in prozentuale Angaben umgerechnet. Dadurch sind Vergleiche mit den Angaben aus der gesammelten Literatur in Abschnitt 2.1.1 möglich.

Bei allen drei Frassarten waren die P_2O_5 -, K_2O - und NH_4 -Gehalte über den Richtwerten. Beim Mehlwurm-Frass war auch der Magnesiumgehalt erhöht. Der Nitratstickstoffanteil war bei allen Frassarten sehr gering und beim FfW-Frass nicht messbar. Das Grundsubstrat hatte ausgeglichene Werte, wobei nur der P_2O_5 -Wert zu gering war. Das Untermischen von 20% FfW-Frass ins Grundsubstrat führte zu einer erhöhten Nährstoffzufuhr mit P_2O_5 und K_2O . Der pH- und EC-Wert blieben in einem ausgeglichenen Bereich. 20% Mehlwurm-Frass führte zu einem starken Anstieg

des P_2O_5 -, K_2O -, Mg - und NH_4 -Wertes. Der NO_3 -Gehalt ist gleichzeitig stark gesunken. Der EC-Wert wurde auf einen extremen Wert erhöht, während der pH-Wert ausgeglichen blieb.

Tabelle 12: Chemische Eigenschaften der Substrate und des Frasses; TM = Trockenmasse; NH_4 in millimol/l Extrakt; *nicht im Topfversuch verwendet

	100% FfW- Frass	100% Mehlwurm- Frass	*100% <i>Hermetia</i> - Frass	K: Grundsubstrat 2	V1: 20% FfW- Frass	V2: 20% Mehlwurm- Frass
TM %, n = 5	30.9 ± 0.6	84.3 ± 1.0	78.9 ± 0.5	83.1 ± 2.4	71.3 ± 6.8	80.9 ± 1.4
pH	5.27	6.28	7.89	6.80	6.59	6.81
EC dS/m	0.99	13.7	13.21	0.98	1.00	3.93
NH_4	2.4	118.8	25.3	0.0	0.4	22.3
NO_3 %	-	0.003	0.008	0.03	0.03	0.003
P_2O_5 %	0.28	4.79	3.45	0.006	0.03	0.53
K_2O %	0.23	2.46	3.39	0.06	0.08	0.36
Mg %	0.01	0.15	0.01	0.01	0.01	0.05

4.4.2 Temperatur und Luftfeuchtigkeit

Die drei auf der Versuchsfläche ausgelegten Temperaturlogger zeigten unterschiedliche Temperaturwerte an. Bei den Loggern Nr. 1 und 2 (Abbildung 55 und Abbildung 56) waren die Temperaturen in den ersten drei Wochen mit Werten zwischen 19°C–27.5°C (Logger Nr. 1) und 21.5°C–28°C (Logger Nr. 2) ähnlich. Während bei Logger Nr. 3 die Werte zwischen 21°C–31°C variierten (Abbildung 57).

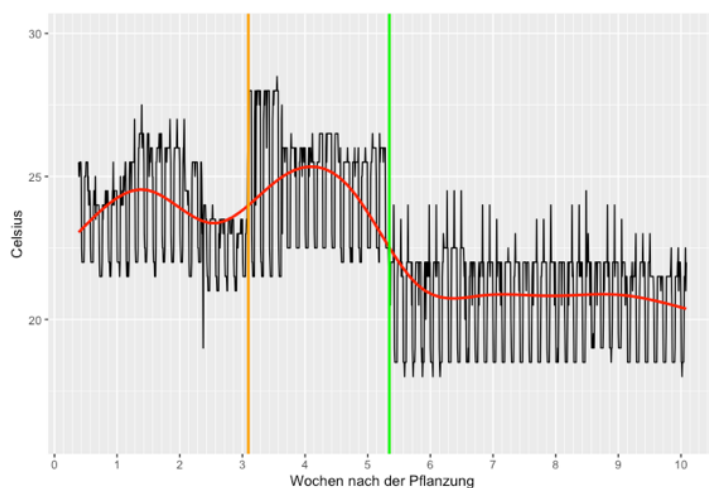


Abbildung 55: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 1

Die täglichen Schwankungen beruhen auf der Absenkung der Temperatur während der Nacht.

Die Vereinheitlichung der Beleuchtung mit vier Natriumdampflampen des gleichen Typus nach drei Wochen (orange Markierung in den Grafiken) bewirkte keine gleichmässigeren Raumtemperaturen: 21.5°C–28.5°C bei Logger Nr. 1, 20.5°C–27°C bei Logger Nr. 2 und 21°C–30°C bei

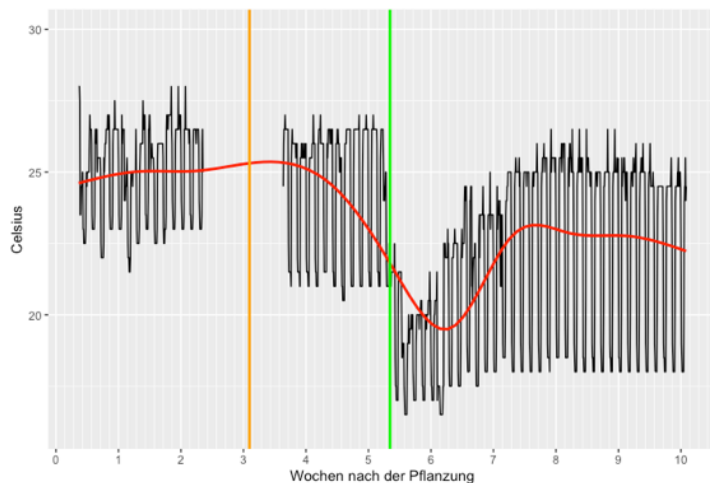


Abbildung 56: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 2

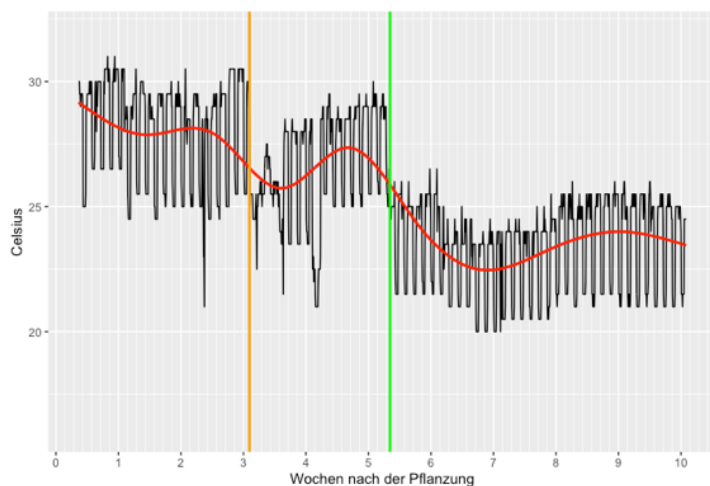


Abbildung 57: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 3

Logger Nr. 3. Da die Logger zwischen die Töpfe platziert wurden, könnte das Blattwerk der Pflanzen durch ein Mikroklima die Unterschiede hervorgerufen haben. Die wöchentlichen Schwankungen könnten auch durch die Umstellung der Töpfe erklärt werden.

Die Wärmeabgabe der Lampen wurde unterschätzt, was zu einer höheren Temperatur auf der Versuchsfläche führte als die Einstellungen des Klimaraums. Durch die Absenkung der Temperatureinstellungen um 4°C (grüne Markierung) wurden die Raumtemperaturen tiefer, nämlich zwischen 18°C–24.5°C (Logger Nr. 1), 16.5°C–26.5°C (Logger Nr. 2) sowie 20°C und 26.5°C (Logger Nr. 3). Logger Nr. 1 wurde nach der Absenkung der Temperatur über den Töpfen an der Luft aufgehängt und zeigte von diesem Zeitpunkt an keine wöchentlichen Schwankungen mehr an.

Die durchschnittliche Luftfeuchtigkeit betrug bei Logger Nr. 1 55.5%, bei Logger Nr. 2 60% und bei Logger Nr. 3 54%. Die Luftfeuchtigkeit befand sich näher im Bereich des eingestellten Wertes. Aber auch hier gab es wöchentliche Schwankungen und grössere Unterschiede zwischen den Loggern (Abbildung 58). Es wurden meist Spitzenwerte nach der Bewässerung festgestellt, was die Schwankungen teilweise erklären könnte.

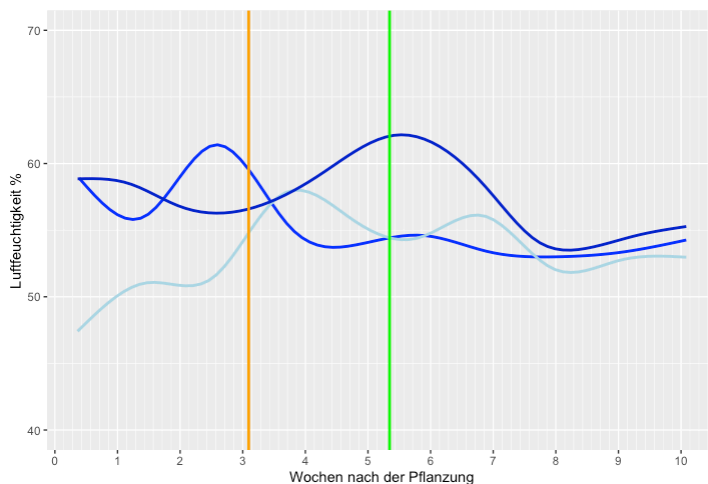


Abbildung 58: Luftfeuchtwerte von Logger Nr. 1–3

4.4.3 Frisch- und Trockenmasse

Bei der Frisch- und Trockenmasse des Sprosses gab es zwischen den zwei Pilzen keine Unterschiede. Unter den Varianten mit *V. dahliae* gab es signifikante Unterschiede bei der Frischmasse des Sprosses (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 9.462$, $p < 0.05$) und ebenfalls bei der Trockenmasse (ANOVA, $F_{3,8} = 9.443$, $p < 0.01$; Tabelle 13)

Tabelle 13: Frisch- und Trockenmasse der Varianten mit *V. dahliae*; SFM = Sprossfrischmasse, STM = Sprosstrockenmasse, WFM = Wurzelfrischmasse, WTM = Wurzeltrockenmasse; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test, n.s = nicht signifikant.

Variante	SFM (g)		STM (g)		WFM (g)		WTM (g)	
K2 n=3	114.6 ± 16	ab	18.7 ± 3.7	a	53.2 ± 34.4	n.s	8.2 ± 2.2	n.s
K1a n=3	114.7 ± 4.3	a	16.3 ± 1.1	a	57.4 ± 23.5	n.s	10.1 ± 3.8	n.s
K3a n=3	85.2 ± 14.5	ab	11.9 ± 3.7	ab	71.4 ± 19.2	n.s	17.3 ± 9.9	n.s
V1a n=3	57.4 ± 3.9	b	7.8 ± 0.7	b	55.6 ± 9.3	n.s	11.6 ± 3.7	n.s
V2a n=1	52.7	-	3.3	-	3.2	-	0.1	-

Unter den Varianten mit *R. solani* gab es signifikante Unterschiede der Frischmasse des Sprosses (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 8.23$, $p < 0.05$) und ebenfalls bei der Trockenmasse (ANOVA, $F_{3,8} = 7.94$, $p < 0.01$; Tabelle 14).

Tabelle 14: Frisch- und Trockenmasse der Varianten mit *R. solani*; STM = Sprosstrockenmasse, WFM = Wurzelfrischmasse, WTM = Wurzeltrockenmasse, Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test, n.s = nicht signifikant.

Variante	SFM (g)		STM (g)		WFM (g)		WTM (g)	
K2 n=3	114.6 ± 16	a	18.7 ± 3.7	a	53.2 ± 34.4	n.s	8.2 ± 2.2	n.s
K1b n=3	74.8 ± 30.8	ab	9.8 ± 4.4	ab	46.2 ± 16.1	n.s	8.4 ± 3.7	n.s
K3b n=3	37.8 ± 2.7	b	4.5 ± 0.8	b	42.2 ± 18	n.s	8.8 ± 8.1	n.s
V1b n=3	58.6 ± 21.2	ab	10.8 ± 4.3	ab	54 ± 11.4	n.s	10.4 ± 3.7	n.s
V2b n=1	74.5	-	4.7	-	5.7	-	0.3	-

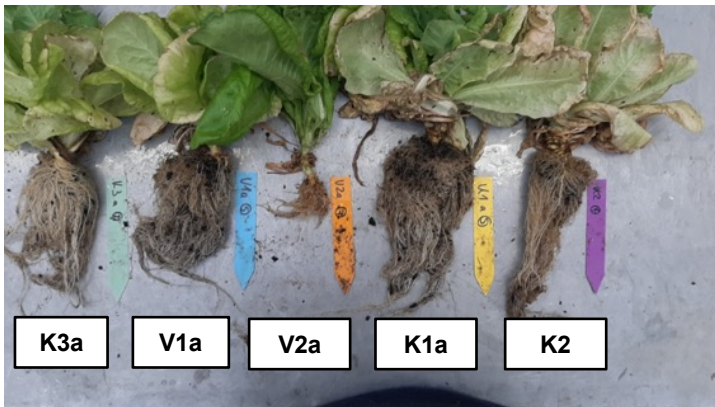


Abbildung 59: Wurzeln der Varianten mit *V. dahliae*

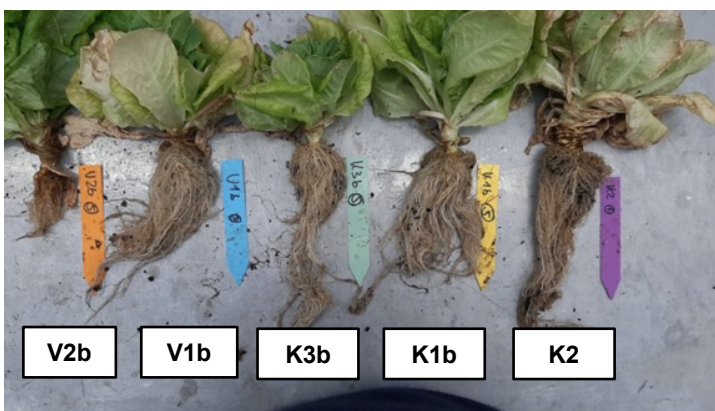


Abbildung 60: Wurzeln der Varianten mit *R. solani*




Bei der Frischmasse und der Trockenmasse der Wurzeln gab es zwischen den zwei Pilzen keine signifikanten Unterschiede. Unter den Varianten mit *V. dahliae* (Abbildung 59) und *R. solani* (Abbildung 60) gab es weder bei der Frischmasse noch bei der Trockenmasse der Wurzeln signifikante Unterschiede. Das Wurzelwachstum der Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2) war jedoch merklich verringert.

4.4.4 Wachstumsverlauf

Nach zwei Wochen

Es konnten Unterschiede im Wachstum zwischen den Varianten erkannt werden. Am auffälligsten war das reduzierte Wachstum bei den beiden Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2a und V2b) (Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich der Pflanzen mit Mehlwurm-Frass und der Kontrollgruppe nach zwei Wochen im Topfversuch

K2	V2a	V2b
		



Bei den Varianten mit *R. solani* konnten bei einigen Töpfen Pilzhyphen auf der Oberfläche des Substrats erkannt werden (Abbildung 61).






Abbildung 61: Pilzhyphen auf dem Substrat im Topfversuch nach zwei Wochen

Nach vier Wochen

Es machten sich Wachstumsunterschiede innerhalb der Varianten bemerkbar. Die Pflanzen mit *R. solani* hatten signifikant weniger Blätter als mit *V. dahliae* (ANOVA, $F_{2,50} = 12.94$, $p < 0.001$).






Innerhalb der Varianten mit *V. dahliae* gab es signifikante Unterschiede der Blattanzahl (ANOVA, $F_{3,19} = 28.87$, $p < 0.001$; Tabelle 16).

Tabelle 16: Pflanzen des Topfversuchs mit *V. dahliae* nach vier Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey Post-hoc-Test.

K2	K1a	K3a	V1a	V2a
				
a	a	b	b	c

Innerhalb der Varianten mit *R. solani* gab es ebenfalls signifikante Unterschiede der Blattanzahl (ANOVA, $F_{3,20} = 14.88$, $p < 0.001$; Tabelle 17).

Tabelle 17: Pflanzen des Topfversuchs mit *R. solani* nach vier Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.






K2	K1b	K3b	V1b	V2b
				
a	b	cd	bc	d

Nach sechs Wochen

Die Pflanzen mit *R. solani* hatten weniger Blätter als mit *V. dahliae* (ANOVA, $F_{2,53} = 13.9$, $p < 0.001$) und der Unterschied im Wachstum machte sich auch visuell bemerkbar. Beinahe alle Pflanzen der Varianten mit Mehlwurm-Frass waren abgestorben.






Innerhalb der Varianten mit *V. dahliae* gab es signifikante Unterschiede der Blattanzahl (ANOVA, $F_{3,21} = 55.59$, $p < 0.001$; Tabelle 18).

Tabelle 18: Pflanzen des Topfversuchs mit *V. dahliae* nach sechs Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

K2	K1a	K3a	V1a	V2a
				
a	a	b	b	c

Innerhalb der Varianten mit *R. solani* gab es ebenfalls signifikante Unterschiede der Blattanzahl (ANOVA, $F_{3,20} = 22.92$, $p < 0.001$; Tabelle 19).

Tabelle 19: Pflanzen des Topfversuchs mit *R. solani* nach sechs Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test

K2	K1b	K3b	V1b	V2b
				
a	b	cd	bc	d

Bei allen Varianten, auch der Kontrolle ohne Pilz, waren die untersten Blätter vertrocknet. Bei den wüchsigeren Varianten (K2 und K1a) war das Ausmass der abgestorbenen Blätter am unteren Teil der Pflanze grösser und es setzte auch eine gewisse Fäule unter den Blättern ein (Abbildung 62). Bei allen Varianten konnte Blattflecken an den Rändern festgestellt werden (Abbildung 63).



Abbildung 62: Fäule der untersten Blätter nach sechs Wochen im Topfversuch








Abbildung 63: Blattflecken nach sechs Wochen im Topfversuch

Nach acht Wochen

Die Pflanzen mit *R. solani* hatten weniger Blätter als mit *V. dahliae* (ANOVA, $F_{2,38} = 17.37$, $p < 0.00$; Tabelle 20). Pro Pilz hatte bei den Varianten mit Mehlwurm-Frass eine Pflanze überlebt. Varianten V2a und V2b wurden bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.






Innerhalb der Varianten mit *V. dahliae* gab es signifikante Unterschiede der Blattanzahl (ANOVA, $F_{2,15} = 10.17$, $p < 0.01$; Tabelle 20).

Tabelle 20: Pflanzen des Topfversuchs mit *V. dahliae* nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

K2	K1a	K3a	V1a	V2a
				
a	a	b	b	-

Innerhalb der Varianten mit *R. solani* gab es keine signifikanten Unterschiede der Blattanzahl (Tabelle 21).

Tabelle 21: Pflanzen des Topfversuchs mit *R. solani* nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

K2	K1b	K3b	V1b	V2b
				
a	b	b	b	-



Einige Pflanzen haben zu diesem Zeitpunkt Blütenstände ausgebildet. Vor allem bei den Varianten mit fortgeschrittenen Wachstumsstadien wie K2 und K1a gab es Pflanzen mit sehr hohen Stängeln (Abbildung 64). Bei allen Pflanzen gab es ausserdem einen starken Befall mit Blattläusen an den unteren Blättern, weshalb sich bei allen Varianten eine ausgeprägte Hellfärbung entwickelte.






Abbildung 64: Kopfsalat mit Blütenstand

Nach zehn Wochen

Bei den Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2a und V2b) konnte eine Pflanze pro Variante überleben, welche seit Woche acht ein verstärktes Wachstum aufweisen konnten. Leider konnten diese Varianten bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt werden.






Bei der Frisch- und Trockenmasse des Sprosses gab es zwischen den zwei Pilzen keine Unterschiede. Unter den Varianten mit *V. dahliae* gab es signifikante Unterschiede bei der Frischmasse des Sprosses (Kruskal-Wallis, $\text{Chi}^2 = 9.462$, $p < 0.05$; Tabelle 22)

Tabelle 22: Pflanzen des Topfversuchs mit *V. dahliae* nach zehn Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

K2	K1a	K3a	V1a	V2a
				
ab	a	ab	b	-

Auch unter den Varianten mit *R. solani* gab es signifikante Unterschiede der Frischmasse des Sprosses (Kruskal-Wallis, $\text{Chi}^2 = 8.23$, $p < 0.05$; Tabelle 23).

Tabelle 23: Pflanzen des Topfversuchs mit *R. solani* nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

K2	K1b	K3b	V1b	V2b
				
a	ab	b	ab	-

4.4.5 Krankheitsbefall

Nach zehn Wochen konnten bei allen Varianten keine typischen Symptome von *R. solani* oder *V. dahliae* weder am oberirdischen Teil der Pflanzen noch an den Wurzeln festgestellt werden. Keinerlei Anzeichen des Pilzes wie Myzel- oder Sporenwachstum wurden auf der Pflanze beobachtet. Bei allen Varianten waren die untersten Blätter vergilbt oder vertrocknet, was durch die ungeeigneten Klimabedingungen und den hohen Befall an Blattläusen hervorgerufen wurde. Da auch die Kontrollvariante ohne Pilzinokulation dieselben Erscheinungen zeigte, wurde, um Fehlinterpretationen zu vermeiden, auf eine Bewertung der oberirdischen Pflanzenteile verzichtet. Bei keiner der Pflanzen konnte eine bräunliche oder schwärzliche Verfärbung des Leitsystems bemerkt werden.

Die beiden Pflanzen der Varianten V2a und V2b mit Mehlwurm-Frass, welche überlebt hatten, machten bei der Betrachtung des Sprosses den gesündesten Eindruck. Die gesamte Blattmasse hatte eine dunkelgrüne Farbe und es waren keine Blattflecken, welche nach sechs Wochen bei allen anderen Varianten auftraten, sichtbar.

4.4.6 Chitinaseaktivität gemessen mit Chitinase Assay Kit

Endochitinase

Bei allen gemessenen Varianten konnte zwei Wochen nach der Pflanzung Chitinaseaktivität gemessen werden. Die höchste Absorption wurde bei der Variante mit FfW-Frass (V1b) gemessen. Es gab jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten.

β -N-Acetyl-Glucosaminidase

Zwischen den Anfangswerten der Glucosaminidase-Aktivität der drei verwendeten Substratmischungen (Grundsubstrat 2 (K1, K2 und K3); Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass (V1); Grundsubstrat 2 + 20% Mehlwurm-Frass (V2)) gab es signifikante Unterschiede (ANOVA, $F_{2,6} = 189.1$, $p < 0.001$). Die Variante mit Mehlwurm-Frass hatte signifikant höhere Werte als das Grundsubstrat 2 und das Substrat mit FfW-Frass (Tukey-Post-hoc-Test, $p < 0.001$).

Die Glucosaminidase-Aktivität beider Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2) ist nach ca. zwei Wochen signifikant gesunken (V2a: t-Test, $F_2 = -34.562$, $p < 0.001$; V2b: t-Test, F_2 , $p < 0.001$; Abbildung 65).

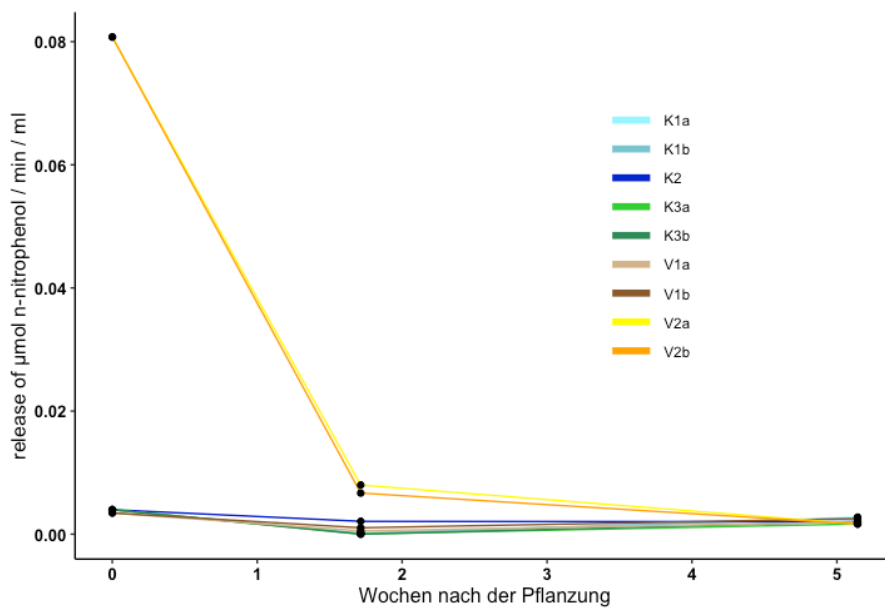


Abbildung 65: Verlauf der Glucosaminidase-Aktivität

Nach zwei Wochen gab es auch signifikante Unterschiede der Glucosaminidase-Aktivität im Substrat zwischen den Varianten (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 30.839$, $p < 0.001$; Abbildung 66). Die Werte der Varianten V2a und V2b unterschieden sich zu allen anderen Varianten ausser zu V1a, V1b und K2 signifikant (signifikante p-Werte nach Dunn-Post-hoc-Test in Tabelle 24). Im Substrat von Variante K3b konnte keine Glucosaminidase-Aktivität entdeckt werden.

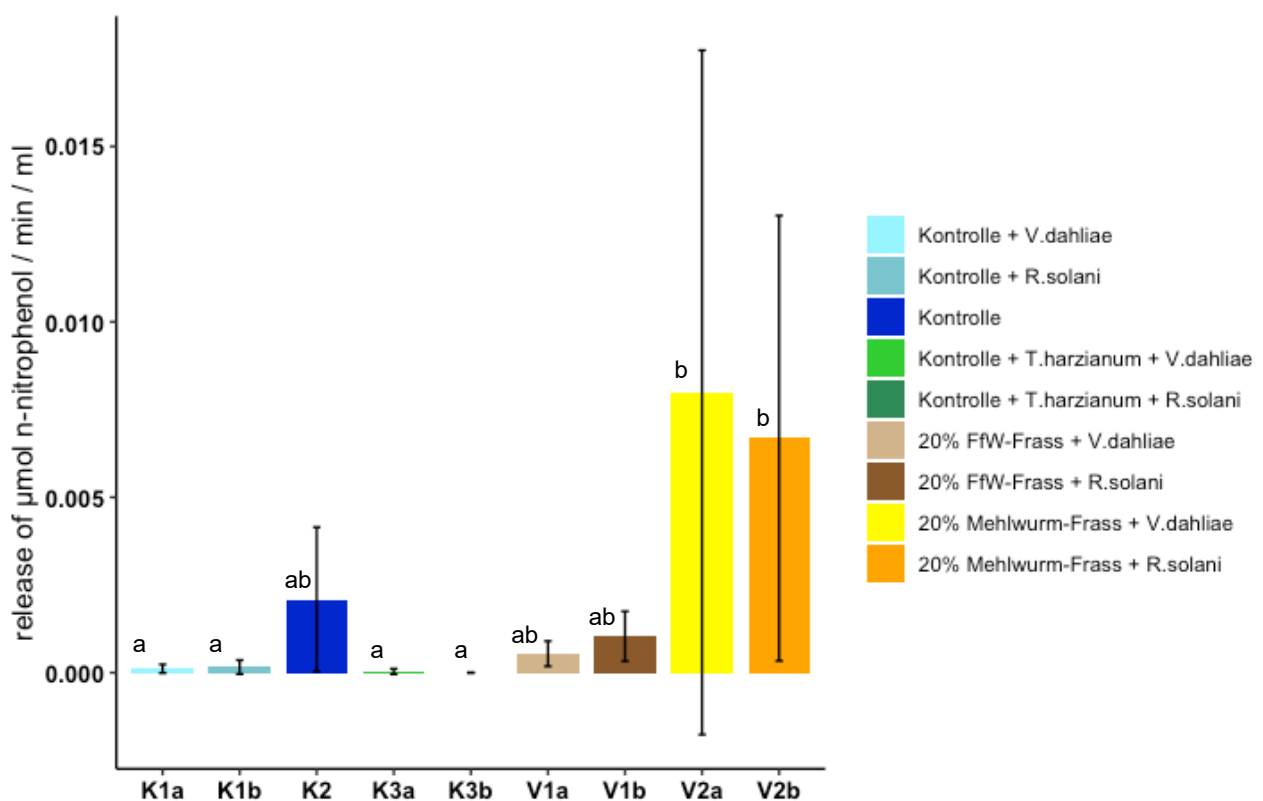


Abbildung 66: β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität im Substrat nach zwei Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

Tabelle 24: Signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität von Messung Nr. 1

Varianten	p-Wert		Varianten	p-Wert
V2a-K1a	< 0.05		V2b-K1a	< 0.05
V2a-K1b	< 0.05		V2b-K1b	< 0.05
V2a-K3a	< 0.01		V2b-K3a	< 0.01
V2a-K3b	< 0.01		V2b-K3b	< 0.01

Nach fünf Wochen ist die Glucosaminidase-Aktivität der Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2) weiter gesunken (Abbildung 65). Die Abnahme war jedoch nicht statistisch signifikant und es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten.

Chitobiosidase

Nach zwei Wochen gab es signifikante Unterschiede der Chitobiosidase-Aktivität im Substrat zwischen den Varianten (ANOVA, $F_{7,32} = 7.562$, $p < 0.001$; Abbildung 67). Die Werte der Varianten V2a und V2b unterschieden sich zu allen anderen Varianten ausser zu V1a signifikant (signifikante p-Werte nach Tukey-Post-hoc-Test in Tabelle 25). Durch einen Fehler bei der Messung konnten von der Variante K2 keine Werte ermittelt werden.

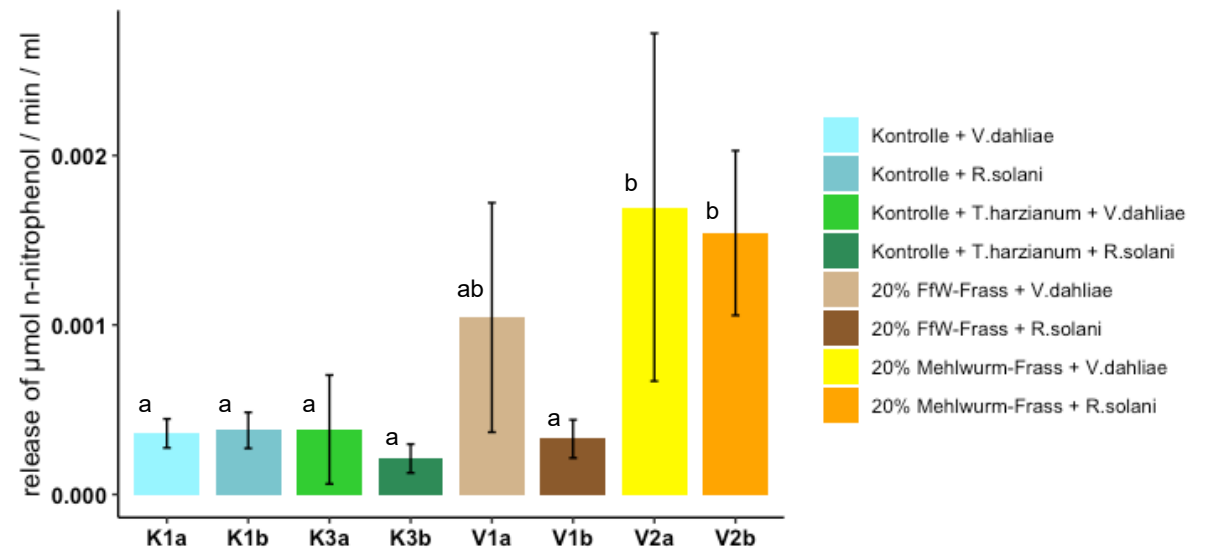


Abbildung 67: Chitobiosidase-Aktivität im Substrat zwei Wochen nach der Pflanzung; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

Tabelle 25: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Chitobiosidase-Aktivität

Varianten	p-Wert		Varianten	p-Wert
V2a-K1a	< 0.01		V2b-K1a	< 0.05
V2a-K1b	< 0.01		V2b-K1b	< 0.05
V2a-K3a	< 0.01		V2b-K3a	< 0.05
V2a-K3b	< 0.001		V2b-K3b	< 0.01

V2a-V1b	< 0.01		V2b-V1b	< 0.01
---------	--------	--	---------	--------

4.4.7 Chitinaseaktivität gemessen mit Dinitrosalicylsäure (DNSA)

Chitinaseaktivität der Pflanzen

Drei Wochen nach der Pflanzung war die Chitinaseaktivität der Pflanzen bei der Variante mit FfW-Frass und der Kontrollvariante K2 am höchsten. Die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant.

Nach vier Wochen war die Chitinaseaktivität bei den Pflanzen der Kontrollvarianten K1a, K2 und K3a am höchsten. Die Unterschiede waren jedoch auch nicht statistisch signifikant.

Chitinaseaktivität im Substrat

Bei den Anfangswerten der Chitinaseaktivität der drei verwendeten Substratmischungen (Grundsubstrat 2 (K1, K2 und K3); Grundsubstrat 2 + 20% FfW-Frass (V1); Grundsubstrat 2 + 20% Mehlwurm-Frass (V2)) hatte das Substrat mit Mehlwurm-Frass die höchsten Werte erzielt. Es konnte jedoch keine statistische Signifikanz berechnet werden. Beim Grundsubstrat wurde keine Chitinaseaktivität gemessen.

Die Chitinaseaktivität beider Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2) ist nach ca. fünf Wochen signifikant gesunken (V2a: Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 10.667$, $p < 0.01$; V2b: Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 10.027$, $p < 0.01$; Abbildung 68).

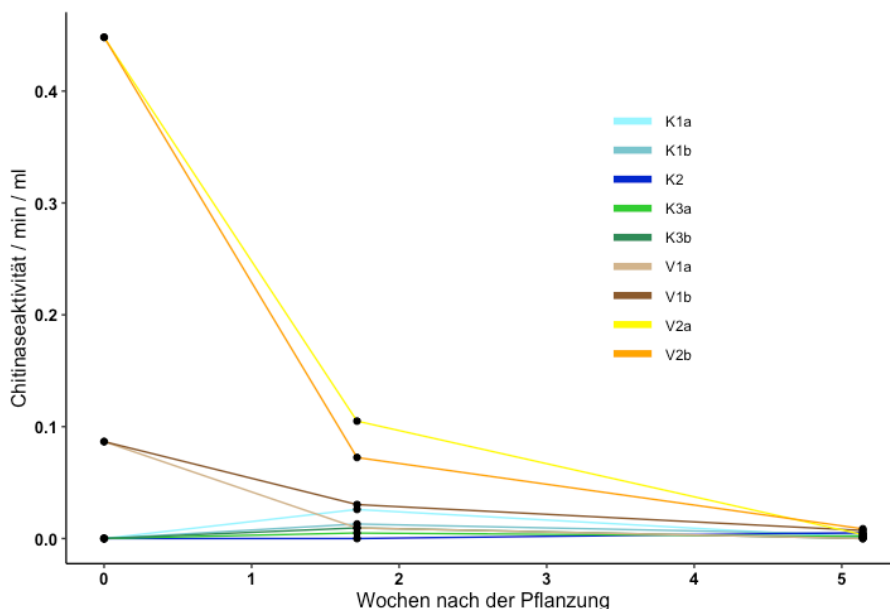


Abbildung 68: Verlauf der Chitinase-Aktivität im Substrat

Zwei Wochen nach der Pflanzung gab es signifikante Unterschiede der Chitinaseaktivität zwischen den Varianten (Kruskal-Wallis, $\chi^2 = 24.458$, $p < 0.01$; Abbildung 69). Die Werte von den Varianten

mit Mehlwurm-Frass (V2) waren am höchsten und von der Kontrolle wurde keine Chitinaseaktivität gemessen (signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests in Tabelle 26).

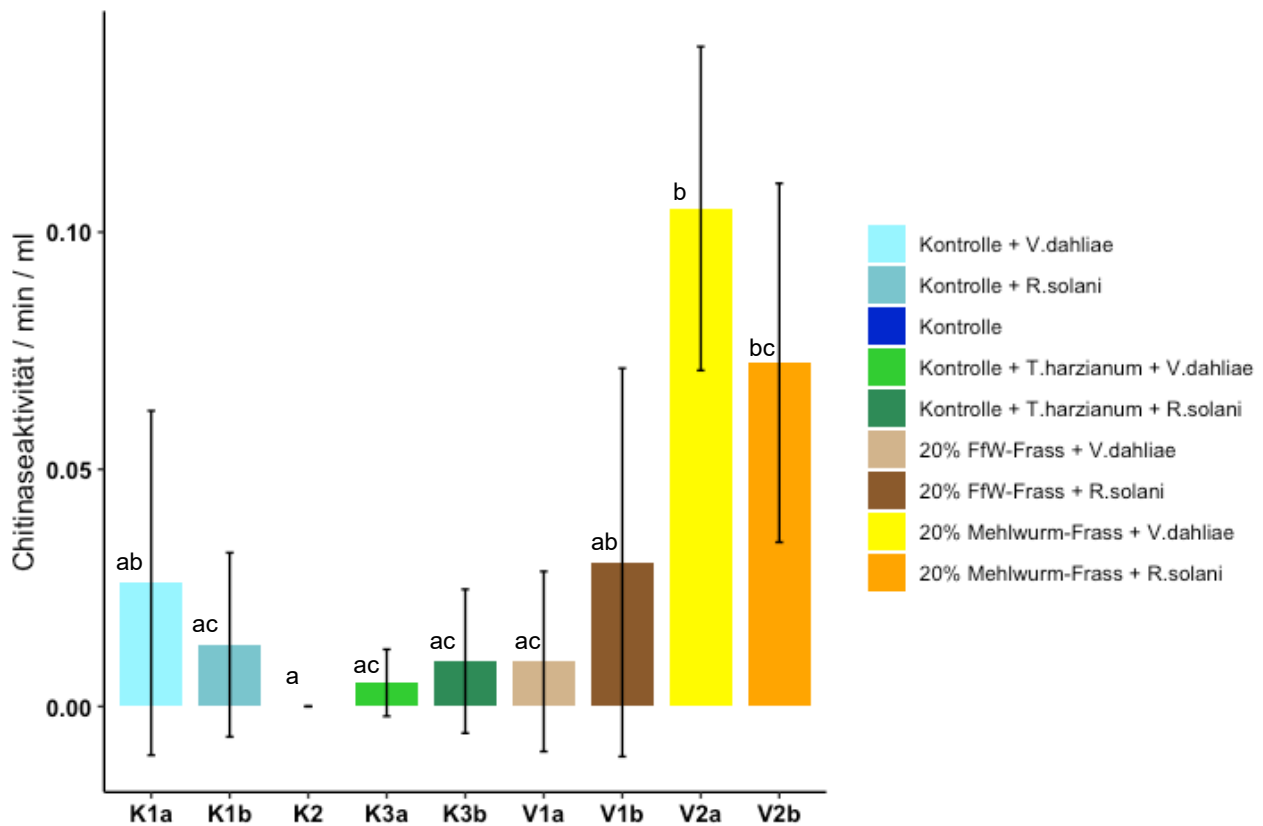


Abbildung 69: Chitinaseaktivität im Substrat nach zwei Wochen gemessen mit DNSA; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.

Tabelle 26: Signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests der Chitinaseaktivität nach zwei Wochen gemessen mit DNSA

Varianten	p-Wert	Varianten	p-Wert
V2a-K1b	< 0.05	V2a-K3b	< 0.05
V2a-K2	< 0.01	V2a-V1a	< 0.05
V2a-K3a	< 0.05	V2b-K2	< 0.05

Nach fünf Wochen gab es keine signifikanten Unterschiede bei der Chitinaseaktivität und von den Varianten K3b und V1a wurde keine Chitinaseaktivität gemessen.

4.4.8 Kolonienanzahl chitinolytischer Mikroorganismen

Es gab signifikante Veränderungen bei der Kolonienanzahl während der Versuchszeit von zwei bis zehn Wochen (ANOVA, $F_{2,127} = 6.897$, $p < 0.01$; Abbildung 70).

Bei allen Varianten ausser der Kontrolle (K2) ist die Anzahl an chitinolytischen Mikroorganismen zwischen zwei und fünf Wochen kontinuierlich gesunken. Bei den beiden Varianten mit Mehlwurm-Frass (V2) und der Positivkontrolle (K3a) ist die Kolonienanzahl nach fünf Wochen weiter gesunken.

Bei den anderen Varianten gab es eine geringe Steigerung der chitinolytischen Mikroorganismen. Bei den Varianten K1a, K3a, V1b, V2a und V2b konnten signifikante Veränderungen festgestellt werden (signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests in Tabelle 27)

Die durchschnittliche Kolonienanzahl bei der Variante V2a betrug nach zwei Wochen 8.3×10^6 CFU und ist bis zur 10. Woche auf 2.9×10^5 CFU gesunken. Bei Variante V2b betrug die durchschnittliche Anzahl nach zwei Wochen 2.4×10^6 CFU und ist auf 5.2×10^5 CFU gesunken.

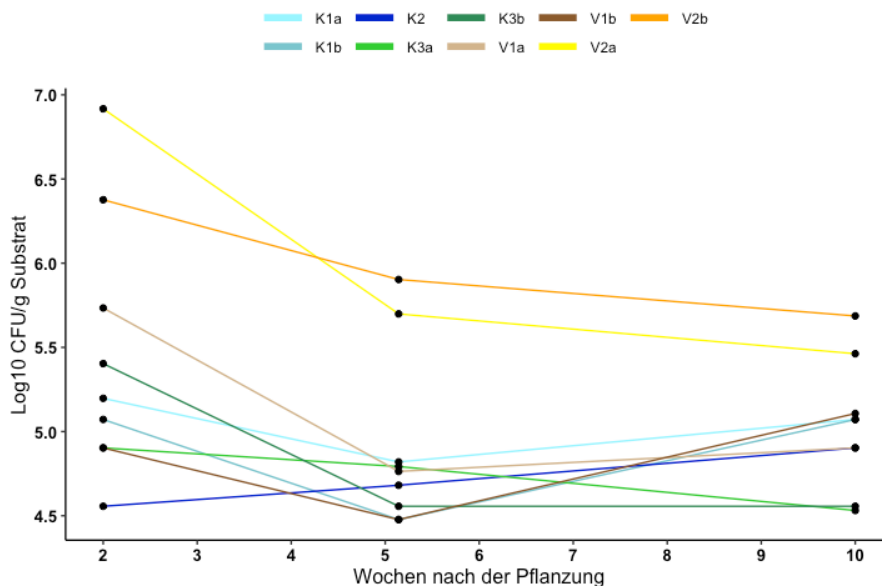


Abbildung 70: Verlauf der Anzahl chitinolytischer Mikroorganismen im Substrat

Tabelle 27: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests des Verlaufs der Kolonienanzahl von chitinolytischen Mikroorganismen

Varianten	2-5 Wochen	5-10 Wochen	2-10 Wochen
K1a	< 0.05	-	-
K3a	-	-	< 0.05
V1b	-	< 0.01	-
V2a	< 0.05	-	< 0.05
V2b	-	-	< 0.05

Nach zwei Wochen gab es signifikante Unterschiede bei der Kolonienanzahl zwischen den Varianten (ANOVA, $F_{8,32} = 10.94$, $p < 0.001$; Abbildung 71). Die Kontrolle hatte die tiefsten Werte. Die Varianten mit Mehlwurm-Frass konnten die höchste Kolonienanzahl aufweisen. Der Unterschied war signifikant höher als bei allen anderen Varianten (signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests in Tabelle 28).

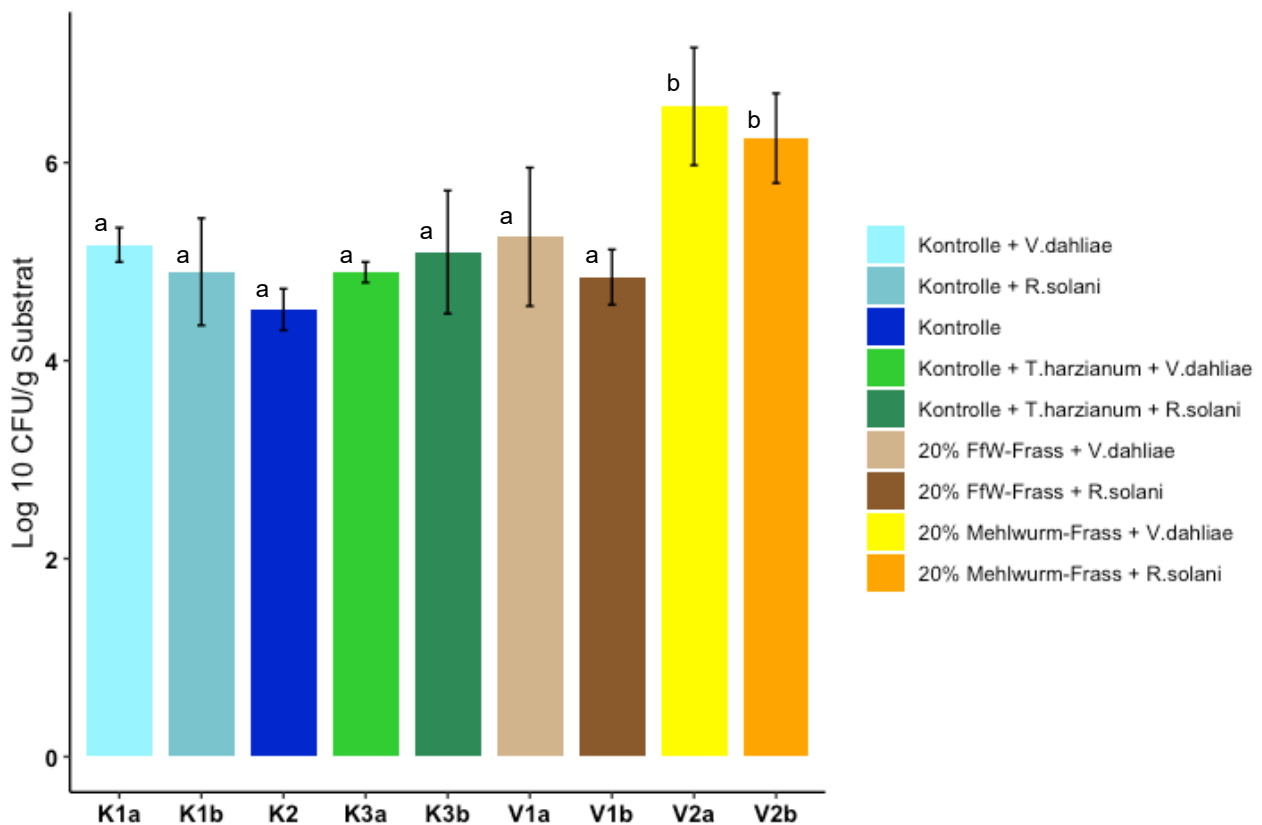


Abbildung 71: Kolonienanzahl nach zwei Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

Tabelle 28: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach zwei Wochen, Log10 transformiert

Varianten	p-Wert		Varianten	p-Wert
V2a-K1a	< 0.01		V2b-K1a	< 0.05
V2a-K1b	< 0.001		V2b-K1b	< 0.01
V2a-K2	< 0.001		V2b-K2	< 0.001
V2a-K3a	< 0.001		V2b-K3a	< 0.01
V2a-K3b	< 0.01		V2b-K3b	< 0.05
V2a-V1a	< 0.05		V2b-V1a	< 0.05
V2a-V1b	< 0.001		V2b-V1b	< 0.01

Nach fünf Wochen gab es signifikante Unterschiede bei der Kolonienanzahl zwischen den Varianten (ANOVA, $F_{8,35} = 7.705$, $p < 0.001$; Abbildung 72). Die Varianten mit Mehlwurm-Frass konnten die höchste Kolonienanzahl aufweisen (signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests in Tabelle 29).

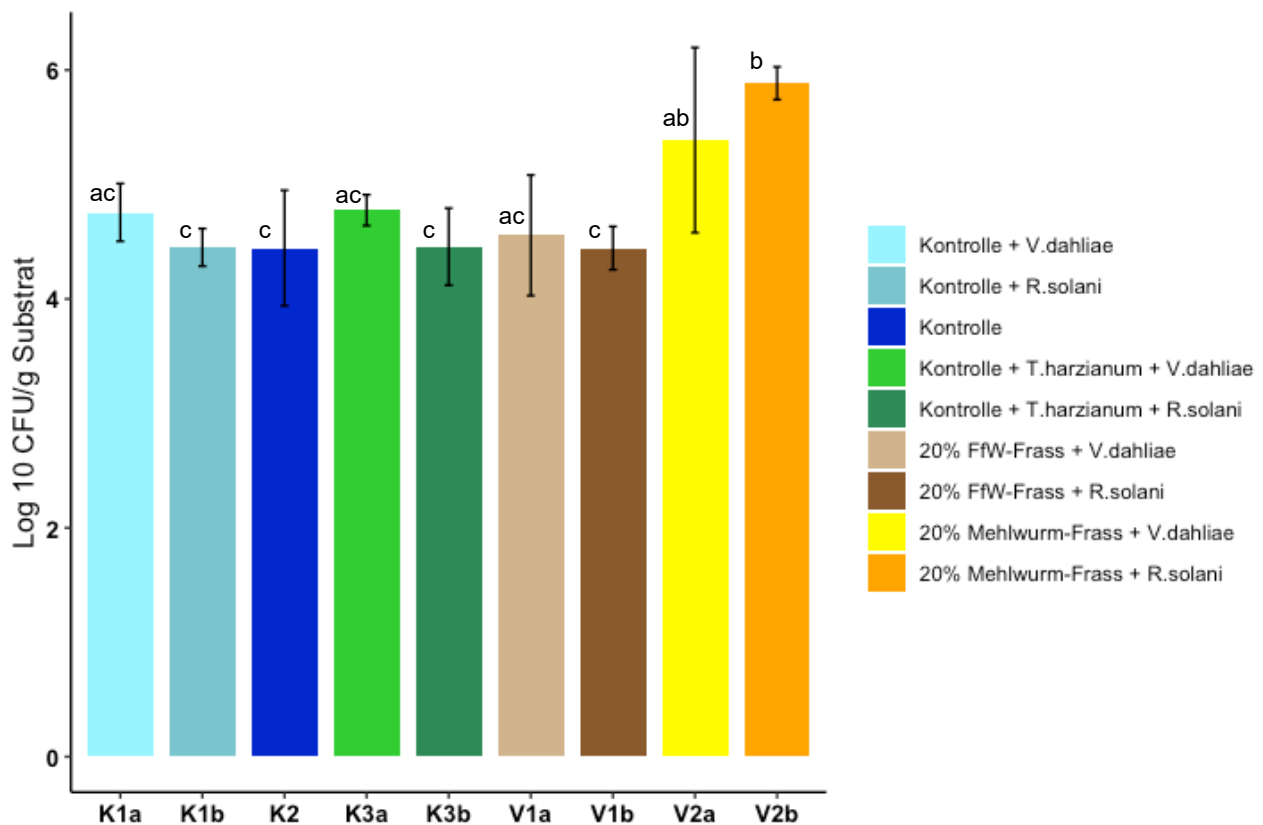


Abbildung 72: Kolonienanzahl nach fünf Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.

Tabelle 29: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach fünf Wochen, Log 10 transformiert

Varianten	p-Wert		Varianten	p-Wert
V2a-K1b	< 0.05		V2b-K1a	< 0.01
V2a-K2	< 0.05		V2b-K1b	< 0.001
V2a- K3b	< 0.05		V2b-K2	< 0.001
V2a- V1b	< 0.05		V2b-K3a	< 0.01
			V2b-K3b	< 0.01
			V2b-V1a	< 0.001
			V2b-V1b	< 0.001

Nach zehn Wochen gab es signifikante Unterschiede bei der Kolonienanzahl zwischen den Varianten (ANOVA, $F_{8,36} = 9.625$, $p < 0.001$; Abbildung 73). Die Varianten mit Mehlwurm-Frass konnten die höchste Kolonienanzahl aufweisen, während die Positivkontrolle mit *T. harzianum* am wenigsten aufwies (signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests in Tabelle 29).

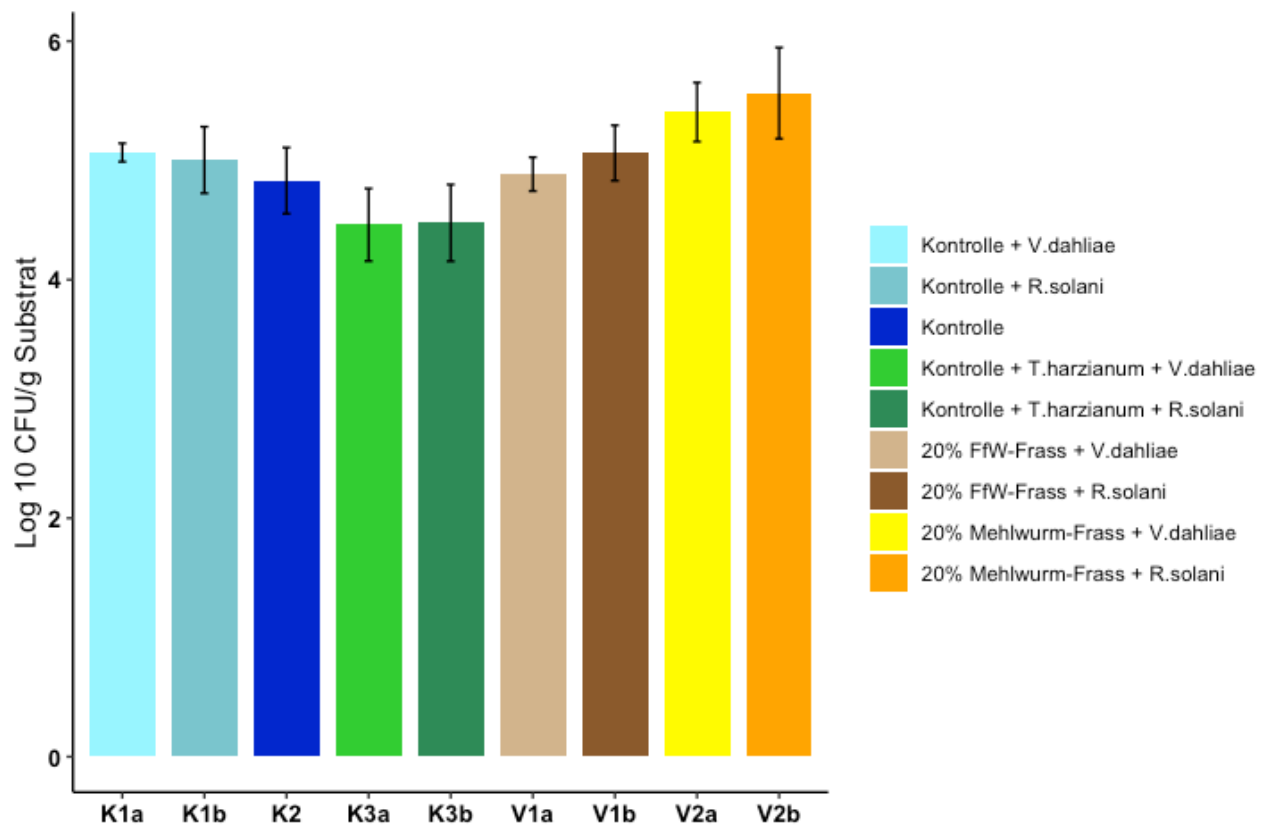


Abbildung 73: Kolonienanzahl nach zehn Wochen

Tabelle 30: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen, Log 10 transformiert

Varianten	p-Wert		Varianten	p-Wert
V2a-K2	< 0.05		V2b-K3b	< 0.001
V2a-K3a	< 0.001		V2b-V1a	< 0.01
V2a-K3b	< 0.001		K1a-K3a	< 0.05
V2b-K1b	< 0.05		K1a-K3b	< 0.05
V2b-K2	< 0.05		V1b-K3a	< 0.05
V2b-K3a	< 0.001		V1b-K3b	< 0.05

5 Diskussion

5.1 Kresstests zur Wirkung gegen *Pythium ultimum*

In Kresstest 1 konnte mit 20% und 10% FfW-Frass die Befallswirkung durch *P. ultimum* signifikant reduziert werden. Beim Grundsubstrat 1 mit geringerem Trockengehalt war die doppelte Menge an Frass wirksamer, weshalb im Kresstest 2 und im Topfversuch 20% FfW-Frass verwendet wurden. Da die Wirkung mit Grundsubstrat 1 stärker zur Geltung kam, wurde fortan mit diesem Grundsubstrat in den Kresstesten gearbeitet.

Auch in Kresstest 2 konnte durch 20% FfW-Frass der Befall durch *P. ultimum* unterdrückt werden, so dass keine Unterschiede zur Negativkontrolle ohne Pilz bestanden. Die zweiwöchige Inkubation der Substratmischung mit FfW-Frass brachte jedoch keine Verbesserung. Auch bei der Negativkontrolle erhöhte die Inkubation den Krankheitsbefall. Die Dauer und die Lagerungsweise des gemischten Substrats scheinen demnach wichtige Aspekte zu sein bei der Pflanzenschutzwirkung und müssen entsprechend abgeklärt werden. Die höhere Feuchtigkeit oder die unterschiedliche Konsistenz zu den nicht inkubierten Substraten könnte die Wirkung von *P. ultimum* verstärkt haben. Auch könnten ungünstige Bedingungen für die antagonistisch wirkende Mikroorganismen während der Inkubation im Substrat geherrscht haben. Wie Pane et al. (2011) festgestellt haben, sind die Mikroorganismen ein wichtiger Bestandteil in Kompost bei der Wirkung gegen *P. ultimum*. Auch im Kresstest 2 wurde die Wichtigkeit der Antagonisten durch die Sterilisation des Substrates mit FfW-Frass festgestellt, da sich ein kompletter Befall zeigte. Da aber das ganze Substrat und nicht der FfW-Frass separat sterilisiert wurde vor dem Untermischen, ist ein direkter Rückschluss auf die Wirksamkeit der Mikroorganismen im FfW-Frass nicht möglich.

Aufgrund der hohen Nährstoff- und teilweise hohen Salzgehalte der drei Frassarten wurde in Kresstest 3 versucht, den Nährstoffgehalt im Substrat nach Richtwerten für Topfsubstrate zu ergänzen. Der Gesamtgehalt an Stickstoff im Frass war nicht bekannt und es war kaum Nitrat im Frass vorhanden. Da der Nitratanteil im Grundsubstrat genügend gedeckt war und ein zu geringer Phosphorgehalt bestand, wurde versucht, diesen Nährstoffbedarf mit dem Frass zu decken.

Die Empfehlung von Wartenberg (2018) zur Phosphorgrunddüngung für Topfpflanzen beträgt 25-150 mg P_2O_5/l Substrat. Es sind jedoch auch 200 mg P_2O_5/l Substrat bei Pflanzen wie *Euphorbia pulcherrima* möglich. Die verwendeten Mengen an Frass waren schlussendlich sehr gering. Die kleine Menge von 0.8% Mehlwurm-Frass reichte aus, um die Anzahl an chitinolytischen Bakterien im Substrat zu erhöhen. Die sterilisierte Variante bewirkte keine Erhöhung. Es kann davon ausgegangen werden, dass im Mehlwurm-Frass eine hohe Konzentration an chitinolytischen Mikroorganismen herrscht, aber das Chitin im Frass keinen grossen Einfluss auf die Aktivität der Mikroorganismen innerhalb der zwei Tage Inkubation hatte. Vom rein angewendeten Chitin konnte kein Einfluss auf die Mikroorganismen festgestellt werden. Eine Inkubationszeit von mehr als zwei

Tagen ist dafür notwendig. Auch die Chitinaseaktivität konnte in diesem Zeitraum nicht erhöht werden.

Der Pilz hatte in diesem Kressetest eine geringe Infektiosität, wobei erst nach ca. sechs Tagen erste Befallssymptome bei der Negativkontrolle mit Pilz sichtbar wurden. Der Versuch musste deshalb auf elf Tage verlängert werden. Schlussendlich wurde nur das Höhenwachstum der Negativkontrolle verringert. Das bessere Wachstum bei den Varianten mit Frass könnte auf eine Düngewirkung zurückgeführt werden, da auch bei den sterilisierten Varianten kein reduziertes Wachstum festgestellt wurde.

5.2 Topfversuch zur Wirkung gegen *R. solani* und *V. dahliae*

5.2.1 Pflanzenwachstum

Im Topfversuch konnte die Kontrollvariante ohne Pilz meist das stärkste Wachstum vorweisen. Da die beiden Pilze anscheinend keine hohe Infektiosität bei dieser Kopfsalatsorte aufwiesen, hatten auch die Kontrollen mit Pilzinokulat vor allem in der Anfangsphase einen Vorteil im Wachstum gegenüber den Varianten mit Frass. Da viele Faktoren das Wachstum der Varianten mit Frass beeinflusst haben könnten, ist eine eindeutige Begründung für das reduzierte Wachstum schwer auszumachen. Weil die Bedingungen im Klimaraum ungleichmässig waren, ist die Interpretation erschwert. Auch nachdem die Lampen ausgetauscht wurden, konnten durch die Temperaturlogger räumliche Differenzen der Bedingungen ausgemacht werden. Durch die wöchentliche Umstrukturierung bei der Anordnung der Varianten konnte jedoch der Einfluss von Klimaunterschieden etwas vermindert werden. Die Temperaturen waren in der ersten Hälfte der Versuchszeit während der Tages- als auch während der Dunkelphase 5–7°C höher als geplant. Auch in den weiteren fünf Wochen blieben die Temperaturen nach der Absenkung 2–3°C zu hoch. Dieser Zustand führte zu einer geringen Kopfbildung und schon nach sechs Wochen gingen einige Pflanzen in das generative Wachstumsstadium über. Das Stängelwachstum war vor allem bei der Kontrollvariante ohne Pilz und mit *V. dahliae* stark ausgeprägt. Nach zehn Wochen zeigten alle Varianten ein generatives Wachstum. Durch hohe Temperaturen wird bei *Lactuca sativa* die Zeit bis zum Reifestadium verkürzt und verlängerte Stängel mit Blütenständen werden gebildet, wodurch die Blätter einen bitteren Geschmack entwickeln. Klimabedingungen von 28°C können schon nach einer Woche zu verlängertem Stängelwachstum bei Salat führen (Al-Said et al., 2018).

Die Beleuchtung bot den Pflanzen eine Lichtintensität von 100–130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, was als gering betrachtet werden kann. Kopfsalat kann jedoch auch bei 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ eine vermarktbar Frischmasse nach fünf Wochen erreichen. Die Photosynthese kann jedoch konstant durch höhere Lichtintensitäten bis ca. 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gesteigert werden und das Wachstum wird entsprechend gefördert (Sago, 2016).

Bei der Variante mit Mehlwurm-Frass wurde das Absterben der Pflanzen durch die hohen Nährstoffgehalte und den hohen Salzgehalt verursacht. Die verwendete Konzentrationsmenge des Frasses im Substrat führte zu phytotoxischen Zuständen. Die Substratanalysen ergaben einerseits einen hohen EC-Wert von 3.9 dS/m und andererseits einen hohen Ammoniumgehalt (NH_4). Der Grenzwert für organische Substrate liegt bei 3.5 dS/m (Al-Said et al., 2018). Nach der Bewertung des Bodenlabors liegen die Richtwerte zwischen 0.5 und 1.1 dS/m.

Der EC-Wert (Electical Conductivity) wird als Indikator für den Salzgehalt im Boden verwendet. Ist der Salzgehalt über dem Grenzwert der entsprechenden Pflanzenart oder Sorte sind die Folgen ein verringertes Wachstum mit tieferer Spross- und Wurzelmasse und geringerer Blattanzahl. *Lactuca sativa* scheint eine moderate Salzverträglichkeit zu haben. Ein genauer Grenzwert ist jedoch aufgrund der Unterschiede in vorhandenen Studien schwer auszumachen. Auch zwischen Salatarten und Sorten kann es hohe Unterschiede geben (Shannon & Grieve, 1998). Die EC-Werte vom *Hermetia*-Frass sind ebenfalls in einem hohen Bereich von 12.2–13.2 dS/m. Auch Bortolini et al. (2020) und Setti et al. (2019) konnten mit ca. 8 dS/m hohe EC-Werte des *Hermetia*-Fresses feststellen. So hohe Werte wie hier wurden bis jetzt aber noch in keiner Studie beschrieben. Auch die P_2O_5 -, K_2O - und Mg-Werte wurden durch den Frass in einen erhöhten Bereich versetzt.

Der hohe Ammoniumgehalt im Mehlwurm-Frass könnte zu einem Ammoniakausstoss im Substrat geführt haben, welcher phytotoxisch für die Pflanzen gewesen sein könnte. Bereits nach zwei Wochen konnte bei der Probenahme des Substrats ein unangenehmer Geruch ausgehend vom Substrat festgestellt werden.

Von der achten Woche an überlebte je eine Pflanze pro Variante mit Mehlwurm-Frass und wies ein stabiles Wachstum auf.

Beim Substrat mit FfW-Frass waren die Ammonium- und Nährstoffgehalte in einem vergleichsweise tiefen Bereich; sie waren jedoch auch etwas erhöht. Der Frass steigerte leicht den Kaliumgehalt und verbesserte die Phosphorversorgung des Substrats. Die Nährstoffkonzentration des Substrats wurde durch den FfW-Frass in keinen phytotoxischen Zustand versetzt.

Die optimale Konzentration von *Hermetia*-Frass für das Pflanzenwachstum betrug in vielen Studien zwischen 10% und 20% des Substratvolumens (Bortolini et al., 2020; Newton et al., 2005; Setti et al., 2019) und auch bei den Kressetesten 1 und 2 konnte eine optimale Wirkung des FfW-Fresses bei dieser Konzentration festgestellt werden. Die resultierende Phytotoxizität des Mehlwurm-Fresses wurde bei 20% Volumenanteil als nicht gefährlich eingestuft, insbesondere da die hohen Nährstoffgehalte zum Zeitpunkt des Versuchsaufbaus nicht bekannt waren. Um einen Vergleich mit dem FfW-Frass zu ermöglichen, wurde der Mehlwurm-Frass mit derselben Konzentration ins Substrat gemischt. Durch die hohe Toleranz von *Lepidium sativum* (Kresse) bezüglich Temperatur- und Bodenbedingung (Falana et al., 2014) kann die Eignung des Substrats für andere Pflanzenarten schwer eingeschätzt werden.

Das verwendete Grundsubstrat 2 ist ausserdem nicht optimal für das Pflanzenwachstum in Töpfen ausgelegt. Die feinkörnige Aussaaterde verdünnt mit Sand und Vermiculite ermöglicht jedoch ein sauberes Auswaschen des Substrats für Wurzeluntersuchungen und kann den positiven oder negativen Einfluss von organischen Zusätzen auf das Pflanzenwachstum und die Pflanzenschutzwirkung besser hervorheben, als wenn optimiertes Topfsubstrat verwendet wird. Die Substratzusammensetzung in Topfversuchen wird je nach Studie unterschiedlich gehandhabt. Die Verwendung von Topfsubstrat ist dabei eher die Ausnahme. Meist wird Erde aus nahegelegenen Böden verdünnt oder unverdünnt verwendet. Mota & dos Santos (2016) verwendeten beispielsweise bei einem Topfversuch mit Tomaten Erde, welche zusätzlich mit Sand vermischt wurde (1:2, vol.). Es gibt jedoch auch Varianten auf Basis von Kompost verdünnt mit Sand und Vermiculite (2:1:1, vol., (Chae et al., 2006)) oder Torf mit Sand und Vermiculite (8:1:1, vol., (Rafferty et al., 2003)). Die Diversität der verwendeten Böden und Substrate sowie die Unterschiede der Frass-Eigenschaften machen den Vergleich schwierig und die Wirkungsabschätzung ohne vorgängige chemische Analysen ist unsicher. Ausserdem haben Pflanzenarten bestimmte Ansprüche an das Substrat wie pH-Wert und Nährstoffgehalt. Bei nährstoffreichem Material wie dem Mehlwurm- und *Hermetia*-Frass muss die Konzentration auf die Nährstoffansprüche der Pflanzen abgestimmt werden. Vorgängige Analysen des Frasses sind deshalb grundlegend, da die unterschiedlichen Produktionssysteme und Futtermittel die Frasseigenschaften verändern und damit ein Bezug auf die Literatur nicht möglich ist.

5.2.2 Krankheitsbefall

Weil ca. sechs Wochen lang keine Anzeichen von Krankheitssymptomen durch *R. solani* und *V. dahliae* sichtbar waren, wurde der Versuch auf zehn Wochen verlängert, im Wissen, dass die Krankheiten sich eher später in der Kulturzeit entwickeln. Doch bis zum Schluss wurden keine typischen Krankheitsbilder festgestellt. Bei *V. dahliae* ist anzunehmen, dass weder eine Infektion noch eine Beeinträchtigung der Pflanze hervorgerufen wurde, da das Wachstum der Kontrolle sich nicht von der Kontrolle ohne Inokulation unterschied und das geringere Wachstum der Varianten mit Frass hauptsächlich durch die erhöhten Nährstoff- und Salzgehalte im Substrat und den ungleichmässigen Klimabedingungen hervorgerufen wurde.

Bei *R. solani* gab es eine Beeinträchtigung der Kontrolle und das Wachstum aller Varianten war im Vergleich zur entsprechenden Variante mit *V. dahliae* verringert, was auf eine Infektion mit *R. solani* hinweisen könnte. Auch gab es ab Woche vier keine Unterschiede des Sprosswachstums zwischen der Kontrolle und der Variante mit FfW-Frass.

Durch beide Hirseinokulate konnte das Wachstum der Pilze auf den entsprechenden Agar-Platten beobachtet werden. Im Topfversuch bewegte sich die Temperatur im optimalen Bereich für das Pilzwachstum.

Für Topfversuche mit *R. solani* ist die Inokulation mit Getreidekörnern eine gängige Methode. Pane et al. (2011) verwendeten eine Menge von 0.3%, 1% und 3% Hirseinokulat (w.) bei einem Topfversuch mit Kresse. Kamil et al. (2007) verwendeten 1% (w.) Gersteninokulat bei einem Topfversuch mit Sonnenblumen (*Helianthus annuus*). Die Menge von 1.5% Hirseinokulat im gegenwärtigen Topfversuch bewegte sich in diesem Rahmen. *V. dahliae* wird häufiger mit einer Sporensuspension inokuliert (Bhat & Subbarao, 1999; Erdoğan et al., 2015; Hayes et al., 2011; Vallad et al., 2006). *V. dahliae* wächst jedoch auch auf Getreidekörnern. Huang et al. (2006) verwendeten beispielsweise 4% Haferinokulat (w.) bei einem Topfversuch mit Baumwolle. Die Inokulatmenge in diesem Topfversuch war dazu vergleichsweise gering.

Zur Resistenz der verwendeten Kopfsalatsorte wurden keine Informationen gefunden. Eine geringere Widerstandskraft gegen Pilzkrankheiten im Vergleich zu neueren Salatsorten wurde bei der Auswahl angenommen.

5.2.3 Chitinaseaktivität und chitinolytische Mikroorganismen im Substrat

Durch den Mehlwurm-Frass konnte eine erhöhte Chitinaseaktivität im Substrat bewirkt werden, welche auch mindestens nach zwei Wochen signifikant höher war als bei den meisten anderen Varianten. Mit der erhöhten Anzahl an chitinolytischen Bakterien ist anzunehmen, dass das vorhandene Chitin im Frass zur Förderung dieser Mikroorganismen beigetragen hat, welche wiederum durch den Abbau des Chitins eine höhere Enzymaktivität zeigten. Nach fünf Wochen gab es keine erhöhte Chitinaseaktivität mehr beim Substrat mit Mehlwurm-Frass. Die Anzahl der chitinolytischen Mikroorganismen ist ebenfalls gesunken, blieb jedoch den gesamten Versuchszeitraum höher als bei der Kontrolle. Wie De Boer et al. (1999) feststellen konnten, ist nur eine geringe Menge an Chitin nötig (0.5% Gewichtsanteil), um die Anzahl von chitinolytischen Bakterien zu steigern. Nach vier Wochen kann ca. die Hälfte des Chitins bei 20°C abgebaut werden, was hauptsächlich durch Actinomyceten und schnellwachsende Pilze geschieht. Die Anzahl an Actinomyceten blieb auch nach acht Wochen erhöht.

Durch diesen relativ schnellen Abbau des Chitins könnte im gegenwärtigen Topfversuch die geringe Chitinaseaktivität nach fünf Wochen erklärt werden. Es ist anzunehmen, dass ab diesem Zeitpunkt an nicht mehr genug Chitin im Substrat vorhanden war, um die Enzymaktivität der Mikroorganismen signifikant zu fördern. Es muss auch beachtet werden, dass kein reines Chitin appliziert wurde und der Chitinabbau im Frass schon vor der Anwendung stattfand, da die maximale Chitinaseaktivität im Substrat am Anfang festgestellt wurde. Auch die höheren Temperaturen im Klimaraum könnten den Abbau beschleunigt haben. Es war nicht möglich, das Potential der Pflanzenschutzwirkung durch die Förderung der chitinolytischen Bakterien im Topfversuch zu beobachten, da nur eine Pflanze pro Variante mit Mehlwurm-Frass überlebte und ein Befall durch die inokulierten Pilze kaum sichtbar wurde. Chae et al. (2006) konnten in einem Topfversuch durch die Applikation von 30%

Chitinkompost im Substrat die Anzahl der chitinolytischen Bakterien auf ca. 10^7 CFU steigern. Die Chitinaseaktivität war beim Substrat mit Chitin ca. doppelt so hoch wie bei der Kontrolle. Die Symptome durch *Phytophthora capsici* bei Paprika (*Capsicum annum*) konnten dadurch signifikant innerhalb der neun Tage Versuchsdauer unterdrückt werden. Durch den Mehlwurm-Frass konnte mit 8.3×10^6 CFU (V2a) und 2.4×10^6 CFU (V2b) eine ähnlich hohe Anzahl an chitinolytischen Bakterien am Anfang des Versuchs erreicht werden.

Die Chitinaseaktivität der Pflanzen mit Mehlwurm-Frass im Substrat konnte nicht getestet werden. Die Messung der anderen Varianten zeigte keine signifikanten Unterschiede der Chitinaseaktivität in den Pflanzen. Jedoch konnte bei allen Pflanzen Chitinaseaktivität festgestellt werden, was jedoch nicht auf einen Stressfaktor zurückgeführt werden muss, da Pflanzen eine Grundkonzentration an Chitinaseenzymen im Gewebe beinhalten. Da viele weitere Stressfaktoren die Chitinaseaktivität erhöhen können, ist der Rückschluss auf einen Wirkungsfaktor schwierig herzustellen. Insbesondere wenn es keine merkliche Erhöhung der Werte im Vergleich zur Kontrolle gibt. In diesem Versuch wurde geprüft, ob das Chitin im Frass eine systemische Chitinaseaktivität in der Pflanze induziert, welches in den Blättern versucht wurde zu messen. Die Pflanzen mit hohem Chitinanteil im Substrat (Mehlwurm-Frass) konnten jedoch nicht gemessen werden.

Da der Anstieg der Enzymaktivität in wenigen Tagen das Maximum erreichen kann, ist eine tägliche Messung notwendig, was jedoch hier aufgrund organisatorischer Nachteile nicht möglich war. Der Versuch sollte auch so eingerichtet werden, dass die Pflanzengewebe mit Kontakt zum Chitin oder dem Pathogen untersucht werden können, da in diesen Bereichen die Aktivität am höchsten ist.

5.3 Methoden

5.3.1 Chitinagar-Medium

Es wurde Chitin in drei verschiedenen Formen im Agar als Kohlenstoffquelle für die Auszählung der chitinolytischen Mikroorganismen ausprobiert. Als erfolgversprechend hat sich die Verwendung in kolloidaler Form herausgestellt. Das Chitin ist in diesem Zustand homogen im Medium verteilt, so dass helle Zonen durch den Chitinabbau der Mikroorganismen erkennbar werden. Das roh verwendete Chitin bei Agar Nr. 1 und das Chitosan bei Agar Nr. 3 haben dagegen nicht funktioniert. Bei der Herstellung des kolloidalen Chitins muss beachtet werden, dass das Chitin direkt nach der Auflösung in HCl durch Glaswolle filtriert und in gekühltem Wasser oder 50%igem Ethanol auskristallisiert wird. Ansonsten kann das Chitin beschädigt werden und die Lösung bildet eine schwarze Farbe. Das Chitin kann schliesslich nicht mehr auskristallisiert werden. Das mehrmalige Waschen des Chitins nach der Auskristallisierung hat sich als wichtiger Schritt herausgestellt. Das beim 2. Versuch hergestellte und in Agar Nr. 4 verwendete kolloidale Chitin hatte einen pH-Wert von

1 und der pH-Wert des Agars musste mit einer hohen Menge an NaOH auf 7 erhöht werden, was einen Einfluss auf die Aktivität der Mikroorganismen gehabt haben könnte.

Beim letztendlich verwendeten Agar wurde kein Streptomycin oder Cycloheximid verwendet. Wie bemerkt werden konnte, wird dieses Agar-Rezept eigens für die Isolation oder Auszählung von chitinolytischen Bakterien verwendet (Kamil et al., 2007; Shivalee et al., 2016). Für chitinolytische Pilze und Actinomyceten gibt es ebenfalls speziell entwickelte Rezepte (Schivalee et al., 2016).

Das Limit der Zählbarkeit ist sehr tief. Der Grenzbereich liegt bei ca. 100 Kolonien, wobei auch bei dieser Anzahl die Abgrenzung der Kolonien durch die Aufklärungszone schwierig ist. Die tägliche Kontrolle der Petrischalen ist deshalb wichtig, um die Zählbarkeit von Proben mit hoher Anzahl an chitinolytischen Mikroorganismen zu gewährleisten und damit die höchstmögliche Anzahl an Kolonien ausgezählt werden kann.

Da die Konzentration der chitinolytischen Mikroorganismen im Substrat schlecht vorhersehbar ist, kann die Anfertigung einer Testreihe mit verschiedenen Verdünnungen hilfreich sein, um Nullwerte zu vermeiden. Ausserdem braucht es eine Mindestanzahl an fünf Wiederholungen pro Substrat oder Variante für eine aussagekräftige statistische Auswertung, da das Risiko für Nullwerte hoch ist.

Die Entwicklung des Agar-Mediums brauchte mehr Zeit als erhofft, weshalb das Substrat der ersten Probenahme erst fünf Wochen und dasjenige der zweiten Probenahme ca. zwei Wochen verspätet evaluiert werden konnte. Für gewöhnlich werden Substratproben gekühlt oder gefroren gelagert. Bei um $2 \pm 2^\circ\text{C}$ gelagerten Proben ist eine höhere mikrobielle Aktivität und eine Abnahme der Mikrobe Biomasse anzunehmen, wobei es Unterschiede zwischen Bodentypen gibt. Bei -20°C ist eine weniger grosse Abnahme zu erwarten. Von der ISO wird die Lagerung bei $4 \pm 2^\circ\text{C}$ über nicht länger als drei Monate empfohlen (Stenberg et al., 1998). Die ersten Substratproben könnten über die längere Lagerungsdauer eine Abnahme der chitinolytischen Mikroorganismen erfahren haben. Akpan & Iliyasu (2015) stellten eine ca. 35–50% Reduktion der CFU von Bakterien in Bodenproben nach 42 Tagen bei 4°C abhängig von der Bodentiefe fest. Die Anzahl der Pilze wurde ebenfalls ca. 35–40% reduziert. Bestimmte Arten von Mikroben wie beispielsweise Gram-positive Bakterien vertragen die Lagerung besser.

5.3.2 Chitinaseaktivität

Die beiden verwendeten Methoden zur Messung der Chitinase im Substrat und der Pflanze haben verschiedene Vor- und Nachteile. Pro Messdatum wurden 1–1.5 Arbeitstage für die 45 Substratproben benötigt, wobei für die DNSA-Methode mehr Zeit aufgewendet werden musste. Die Bestimmung der Grundkonzentration an reduzierenden Zuckern im Duplikat und das Einlegen der einzelnen Proben im Spektrophotometer waren mit erhöhtem Aufwand verbunden. Die Absorptionsmessung im Mikroplattenleser ist eine Möglichkeit den Zeitaufwand zu senken, jedoch muss dafür zusätzlich eine Standardkurve angefertigt werden.

Die Chitinasemessung mit dem Assay-Kit ermöglicht es drei verschiedene Chitinaseaktivitäten zu bestimmen, vorausgesetzt die nötigen Chitinase-Substrate sind vorhanden. Der Kostenfaktor muss dabei eher berücksichtigt werden als mit der DNSA-Methode. Da in der Fragestellung der gegenwärtigen Arbeit lediglich ein Vergleichswert der Chitinaseaktivität zwischen den Varianten gefragt war, wurde die Bestimmung der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität als ausreichend repräsentativ erachtet. Sollte die gesamte Chitinaseaktivität ermittelt werden, ist die Behandlung der Proben mit allen drei Chitinase-Substraten vorzuziehen. Im Gegensatz zur Messmethode mit DNSA kann durch die hohe Sensitivität auch eine sehr tiefe Chitinaseaktivität in der Probe ermittelt werden. Durch die natürliche Variation der Chitinasekonzentration in derselben Probe können sich bei einer tiefen Chitinaseaktivität Minuswerten ergeben, da die Grundkonzentration an reduzierenden Zuckern im Duplikat vom Wert der inkubierten Variante abgezogen wird.

Bei beiden Methoden konnte eine hohe Standardabweichung innerhalb der Varianten beobachtet werden. Bei Testmessungen konnten auch innerhalb derselben Substratproben unterschiedlich hohe Werte festgestellt werden, was auf eine heterogene Verteilung der Chitinaseaktivität im Substrat schliessen lässt. Die Abweichungen könnten verringert werden durch die Verwendung von höheren Mengen an Substrat bei der Zubereitung des Enzymextrakts. Mehr Enzymextrakt bei der Inkubation mit Chitin würde ebenfalls die Variation senken. Nach den Anweisungen im Assay-Kit sind 10 μ l Enzymextrakt die maximale Menge, welche verwendet werden kann. Bei Messungen mit DNSA kann die Dosis je nach Zeitaufwand und Möglichkeiten im Labor angepasst werden. Die Enzym- und Reagenzmenge, welche hier verwendet wurden, waren optimal abgestimmt für die Zubereitung in 2 ml-Tubes.

Viele Faktoren wie pH-Wert, Inkubationszeit, Temperatur, Konzentration des kolloidalen Chitins oder Anteile der verwendeten Reagenzien können die Chitinaseaktivität während der Inkubation beeinflussen. Da sich die Methoden in den verschiedensten Studien diesbezüglich unterscheiden, müssen diese Faktoren bei einem gewollten Vergleich dementsprechend angepasst werden.

Da die Messmethode mit DNSA während des laufenden Topfversuches entwickelt und getestet wurde, konnten das Substrat der ersten Probenahme erst zwei Wochen später gemessen werden.

5.4 Schlussfolgerung

Durch die steigende Massenproduktion von essbaren Insekten wächst das Interesse an der Verwertung des Frasses als Düngemittel oder Substratzusatz. Seit 2019 sind vermehrt wissenschaftliche Studien zum Thema publiziert worden und mehrheitlich wurde das Potential durch günstige Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum aufgezeigt. Jedoch konnten auch phytotoxische Eigenschaften im Substrat festgestellt werden, was auch im vorliegenden Topfversuch bezüglich des Mehlwurm-Frasses und teilweise beim FfW-Frass beobachtet wurde. Entscheidend ist dabei die Konzentration, in welcher das Substrat mit dem Frass angereichert wird. Diesbezüglich können aber

keine allgemeinen Aussagen getroffen werden, da sich die Frass-Eigenschaften nicht nur zwischen den Insektenarten, sondern auch zwischen den Produzenten der gleichen Insektenart unterscheiden können. Im gegenwärtigen Topfversuch war ein Vergleich der Frassarten mittels Volumenanteil nicht zielführend. Vergleichbarer könnte die Anwendung durch die Menge an Nährstoffgehalt sein, wodurch phytotoxische Einflüsse durch erhöhte Nährstoffzugabe verringert werden könnten. Nach den Nährstoffgehalten des hier untersuchten Mehlwurm- und des *Hermetia*-Frasses ist die Anwendung höchstens als Düngemittel möglich, während der FfW-Frass mit grösserem Volumen angewendet werden kann. Vor allem die hohen P_2O_5 - und K_2O -Gehalte des Mehlwurm- und *Hermetia*-Frasses könnte die Eignung als Phosphor-Kalium-Dünger ermöglichen. Durch Anpassung der Substratzusammensetzung oder die Entwicklung eines Substrats für Kulturen mit höherem Nährstoffbedarf könnten höhere Frass-Konzentrationen im Substrat ermöglicht werden. Auch die Lagerung der Substratmischung über mehrere Wochen könnte phytotoxische Substanzen verringern. Ein angepasstes Kompostierungsverfahren für den Frass kann ebenfalls die Substrateigenschaften sowie den Nitratgehalt verbessern und die Verringerung des Ammoniakausstosses bewirken. Die Kombination mit reifem Kompost könnte auch eine wirksame Methode der Weiterverarbeitung sein. Es bestehen jedoch noch grosse Wissenslücken bei der Weiterverarbeitung und Lagerung des Frasses.

Der Chitingehalt des Frasses könnte im Vergleich zu anderen organischen Zusatzstoffen, wie beispielsweise Kompost, ein Vorteil bei der Pflanzenschutzwirkung gegen Pilzpathogene sein. Die Pflanzenschutzwirkung durch die Förderung von chitinolytischen Mikroorganismen und die Steigerung der lytischen Enzyme im Substrat mittels Chitin konnte schon vielfach in der Literatur bewiesen werden. Die Anwendungsbereiche können dabei pflanzenpathogene Pilze, Nematoden und auch Bakterien sein. Im vorliegenden Topfversuch konnte durch das Chitin im Mehlwurm-Frass die Chitinaseaktivität und die Anzahl an chitinolytischen Mikroorganismen gesteigert werden. Im Kresstest 3 gab es eine gemässigte Erhöhung durch die geringere Anwendungsmenge. Wieviel Frass für die Bekämpfung von Pilzpathogenen nötig ist, konnte nicht abgeklärt werden. Die Dosierungsmenge muss so angepasst werden, dass eine Balance zwischen Förderung nützlicher Mikroorganismen mit entsprechender Enzymaktivität und eine Eignung für das Pflanzenwachstum besteht. Zusätzlich ist der Zeitfaktor entscheidend, da es eine bestimmte Reaktionszeit für die Chitinaseaktivität und die Anzahl der chitinolytischen Mikroorganismen nach der Chitinapplikation gibt und der Maximalwert nach einer gewissen Zeit wieder absinkt. Im vorliegenden Topfversuch war die signifikant höhere Anzahl der chitinolytischen Mikroorganismen weniger stark gesunken als die Chitinaseaktivität.

Die Standardisierung der Frass-Eigenschaften durch Anpassungen in der Insektenproduktion, wie beispielsweise die Entwicklung eines Standardfutters, ist wichtig für eine gleichbleibende Qualität bei der weiteren Verwertung des Frasses. Auch welchen Einfluss Verfahren wie die Trocknung oder

Dämpfung des Frasses auf die Pflanzenschutzwirkung haben, muss abgeklärt werden, da diese Behandlungen Einfluss auf die Mikroorganismen haben könnten.

Grösser angelegte Versuche sollten erst nach Untersuchungen zur Phytotoxizität und weiteren Schnelltests bei Keimlingen oder In-vitro-Versuchen auf Petrischalen durchgeführt werden. Das Anwendungsfeld und die Wirkungsweise kann so eingeeengt und optimiert werden, was die wissenschaftliche Beweisführung erleichtert.

6 Literaturverzeichnis

- Abdelzaher, H. M. A. (2003). Biological control of root rot of cauliflower (caused by *Pythium ultimum* var. *Ultimum*) using selected antagonistic rhizospheric strains of *Bacillus subtilis*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 31(3), 209–220. <https://doi.org/10.1080/01140671.2003.9514255>
- Akpan, G. U., & Iliyasu, M. (2015). Effect of Length of Soil Sample Storage on Soil Microbiological and Biochemical Properties in Uyo, Nigeria. *Global Journal of Agricultural Research*, Vol.3(Nr.3), 25–37.
- Alattar, M., Alattar, F., & Popa, R. (2016). Effects of microaerobic fermentation and black soldier fly larvae food scrap processing residues on the growth of corn plants (*Zea mays*). *Plant Science Today*, 3, 57–62. <https://doi.org/10.14719/pst.2016.3.1.179>
- Al-Said, F., Hadley, P., Pearson, S., Khan, M. M., & Iqbal, Q. (2018). EFFECT OF HIGH TEMPERATURE AND EXPOSURE DURATION ON STEM ELONGATION OF ICEBERG LETTUCE. 7.
- Amaral, D. O. J. do, Almeida, C. M. A. de, Correia, M. T. dos S., Lima, V. L. de M., & Silva, M. V. da. (2012). Isolation and Characterization of Chitinase from Tomato Infected by *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici*. *Journal of Phytopathology*, 160(11–12), 741–744. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01960.x>
- Baiyee, B., Ito, S., & Sunpapao, A. (2019). *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 106, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.009>
- Berenbaum, M. (2003). Frass-Eating Grins. *American Entomologist*, 49(3), 132–133. <https://doi.org/10.1093/ae/49.3.132>
- Berezina, N. (2016). Production and application of chitin. *Physical Sciences Reviews*, 1(9). <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0048>
- Bhat, R. G., & Subbarao, K. V. (1999). Host Range Specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*®, 89(12), 1218–1225. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.12.1218>
- Bortolini, S., Macavei, L. I., Saadoun, J. H., Foca, G., Ulrici, A., Bernini, F., Malferrari, D., Setti, L., Ronga, D., & Maistrello, L. (2020). *Hermetia illucens* (L.) larvae as chicken manure management tool for circular economy. *Journal of Cleaner Production*, 262, 121289. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121289>
- Cai, R., Wu, X., Wang, X., & Xu, X. (2020). Effects of insect frass with different cadmium content on maize plant growth and cadmium accumulation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 450, 012123. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/450/1/012123>

- Carlen, C., Hogrebe, M., & Poffet, J. (2020). *Überprüfung und Anpassung der Richtwerte der «Flugschrift 113» für torffreie Substrate im Zier- pflanzenbau*. 54.
- Chae, D. H., De Jin, R., Hwangbo, H., Kim, Y. W., Kim, Y. C., Park, R. D., Krishnan, H. B., & Kim, K. Y. (2006). Control of Late Blight (*Phytophthora capsici*) in Pepper Plant with a Compost Containing Multitude of Chitinase-producing Bacteria. *BioControl*, 51(3), 339–351. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-2934-x>
- Choi, Y.-C., Choi, J.-Y., Kim, J.-G., Kim, M.-S., Kim, W.-T., Park, K.-H., Bae, S.-W., & Jeong, G.-S. (2009). Potential Usage of Food Waste as a Natural Fertilizer after Digestion by *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *International Journal of Industrial Entomology*, 19(1), 171–174.
- Cohen, J. (1992). A power primer. *Psychological Bulletin*, 112(1), 155–159. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.112.1.155>
- Cohen-Kupiec, R., & Ilan, C. (1998). The molecular biology of chitin digestion. *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 9(Issue 3), 270–277.
- De Boer, W., Gerards, S., Klein Gunnewiek, P. J. A., & Modderman, R. (1999). Response of the chitinolytic microbial community to chitin amendments of dune soils. *Biology and Fertility of Soils*, 29(2), 170–177. <https://doi.org/10.1007/s003740050541>
- De Tender, C., Mesuere, B., Van Der Jeugt, F., Haegeman, A., Ruttink, T., Vandecasteele, B., Dawyndt, P., Debode, J., & Kuramae, E. E. (2019). Peat substrate amended with chitin modulates the N-cycle, siderophore and chitinase responses in the lettuce rhizobiome. *Scientific Reports*, 9, 9890. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46106-x>
- Dick, W. (2011). Development of a soil enzyme reaction assay. *Methods of Soil Enzymology*, 71–84.
- Eldin, A. M. (2009). *Biochemical studies on microbial chitinase* [Doctor of Philosophy in Agricultural Sciences (Agricultural Biochemistry)]. Department of Agricultural Biochemistry Faculty of Agriculture Cairo University.
- Elissen, H., Schilder, M., Postma, J., & Weide, R. van der. (2019). *Disease suppression in cress and sugar beet seedlings with frass of the Black Soldier Fly (Hermetia illucens)* (Nr. 816; S.). Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business Unit Field Crops. <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/562499>
- El-Tarabily, K. A., Soliman, M. H., Nassar, A. H., Al-Hassani, H. A., Sivasithamparam, K., McKenna, F., & Hardy, G. E. S. J. (2000). Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathology*, 49(5), 573–583. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00494.x>
- Entofood fertilizer*. (2020, Juli 11). entofood.com. https://entofood.com/assets/entofood_fertilizer.pdf

- Erdoğan, O., Bölek, Y., Dündar, H., & Bardak, A. (2015). SCREENING OF COTTON GENOTYPES FOR RESISTANCE TO VERTICILLIUM DAHLIAE KLEB. UNDER GREENHOUSE AND FIELD CONDITIONS. *ROMANIAN AGRICULTURAL RESEARCH*, 32, 10.
- Falana, H., Nofal, W., & Nakhleh, H. (2014). *A Review Article Lepidium Sativum (Garden cress)*. 9.
- Ferrari, A. R., Gaber, Y., & Fraaije, M. W. (2014). A fast, sensitive and easy colorimetric assay for chitinase and cellulase activity detection. *Biotechnology for Biofuels*, 7, 37. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-37>
- Frerichs, C., Daum, D., & Pacholski, A. S. (2020). Ammonia and Ammonium Exposure of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Growing in an Organically Fertilized Peat Substrate and Strategies to Mitigate Related Harmful Impacts on Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1696. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01696>
- Gärttling, D., Kirchner, S. M., & Schulz, H. (2020). Assessment of the N- and P-Fertilization Effect of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) By-Products on Maize. *Journal of Insect Science*, 20(5). <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa089>
- Gaspar, E. (2012). *Food Sources and Analytical Approaches for Maltose Determination* (S. 405–424). <https://doi.org/10.1039/9781849734929-00405>
- Gómez Ramírez, M., Rojas Avelizapa, L. I., Rojas Avelizapa, N. G., & Cruz Camarillo, R. (2004). Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue R®, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. *Journal of Microbiological Methods*, 56(2), 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.10.011>
- Graham, L. S., & Sticklen, M. B. (1994). Plant chitinases. *Canadian Journal of Botany*, 72(8), 1057–1083. <https://doi.org/10.1139/b94-132>
- Grosch, R., Lottmann, J., & Berg, G. (2007). Einfluss von antagonistisch wirkenden Trichoderma-Isolaten auf den bodenbürtigen Erreger *Rhizoctonia solani*. *Ressortforschung für den Ökologischen Landbau*, 10.
- Grosch, R., Schneider, J. H. M., & Kofoet, A. (2006). *Nachweis des Erregers der Salatfäule Rhizoctonia solani*. 6.
- Hardham, A. R. (2007). Cell biology of plant–oomycete interactions. *Cellular Microbiology*, 9(1), 31–39. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00833.x>
- Hayes, R. J., Maruthachalam, K., Vallad, G. E., Klosterman, S. J., & Subbarao, K. V. (2011). Selection for Resistance to Verticillium Wilt Caused by Race 2 Isolates of Verticillium dahliae in Accessions of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *HortScience*, 46(2), 201–206. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.2.201>
- Houben, D., Daoulas, G., Faucon, M.-P., & Dulaurent, A.-M. (2020). Potential use of mealworm frass as a fertilizer: Impact on crop growth and soil properties. *Scientific Reports*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61765-x>

- Huang, J., Li, H., & Yuan, H. (2006). Effect of organic amendments on Verticillium wilt of cotton. *Crop Protection*, 25(11), 1167–1173. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.02.014>
- Huis, A. van. (2013). *Edible insects: Future prospects for food and feed security*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Hussin, N., & Ab Majid, A. H. (2020). Termiticidal activity of chitinase enzyme of *Bacillus licheniformis*, a symbiont isolated from the gut of *Globitermes sulphureus* worker. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101548. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101548>
- Inderbitzin, P., Ward, J., Barbella, A., Solares, N., Izyumin, D., Burman, P., Chellemi, D. O., & Subbarao, K. V. (2018). Soil Microbiomes Associated with Verticillium Wilt-Suppressive Broccoli and Chitin Amendments are Enriched with Potential Biocontrol Agents. *Phytopathology*®, 108(1), 31–43. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-17-0242-R>
- IPIFF. (2020). *Edible insects on the European market* [Factsheet]. IPIFF.
- Jenana, R. K. B., Haouala, R., Triki, M. A., Godon, J.-J., Hibar, K., Khedher, M. B., & Henchi, B. (2020). *Composts, compost extracts and bacterial suppressive action on Pythium Aphanidermatum in tomato*. 14.
- Kamil, Z., Rizk, M., Mohamed, M., & Moustafa, S. (2007). Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol. *Global J. Mol. Sci.*, 2.
- Kebli, H., & Sinaj, S. (2017). Agronomisches Potenzial eines natürlichen -Düngers aus Exkrementen von Fliegenlarven. *Agrarforschung Schweiz*, 8.
- Klammsteiner, T., Turan, V., Fernández-Delgado Juárez, M., Oberegger, S., & Insam, H. (2020). Suitability of Black Soldier Fly Frass as Soil Amendment and Implication for Organic Waste Hygienization. *Agronomy*, 10, 1578. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101578>
- Klosterman, S. J., & Hayes, R. J. (2009). A Soilless Verticillium Wilt Assay Using an Early Flowering Lettuce Line. *Plant Disease*, 93(7), 691–698. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-7-0691>
- Kováčik, P., KOZÁNEK, P., TAKÁČ, M., GALLIKOVÁ, P., & VARGA, M. (2010). The effect of pig manure fermented by larvae of house flies on the yield parameters of sunflowers (*Helianthus annul L.*). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, Vol. LVIII (58), 147–153. <https://doi.org/10.11118/actaun201058020147>
- Lochynska, M., & Frankowski, J. (2019). Impact of Silkworm Excrement Organic Fertilizer on Hemp Biomass Yield and Composition. *Journal of Ecological Engineering*, 20(10), 63–71. <https://doi.org/10.12911/22998993/112858>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

- Mota, L. C. B. M., & dos Santos, M. A. (2016). Chitin and chitosan on *Meloidogyne javanica* management and on chitinase activity in tomato plants. *Tropical Plant Pathology*, 41(2), 84–90. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0072-x>
- Murthy, N., & Bleakley, B. (2012). *Simplified Method of Preparing Colloidal Chitin Used For Screening of Chitinase- Producing Microorganisms*. Volume 10(Nr. 2), 5.
- Newton, L., D. Wes Watson, Robert Dove, Craig Sheppard, & Gary Burtle. (2005). *USING THE BLACK SOLDIER FLY, Hermetia illucens, AS A VALUE-ADDED TOOL FOR THE MANAGEMENT OF SWINE MANURE*. 19.
- Ortiz, J. A. C., A.T. Ruiz, J.A Morales-Ramos, M. Thomas, M.G. Rojas, J.K. Tomberlin, L. Yi, R. Han, L. Giroud, & R.L. Jullien. (2016). Insect Mass Production Technologies. In *Insects as Sustainable Food Ingredients; Production, Processing and Food Applications*. Elsevier.
- Pane, C., Spaccini, R., Piccolo, A., Scala, F., & Bonanomi, G. (2011). Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. *Biological Control*, 56(2), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.10.002>
- Postma, J., & Schilder, M. T. (2015). Enhancement of soil suppressiveness against *Rhizoctonia solani* in sugar beet by organic amendments. *Applied Soil Ecology*, 94, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.05.002>
- Poveda, J., Jiménez-Gómez, A., Saati-Santamaría, Z., Usategui-Martín, R., Rivas, R., & García-Fraile, P. (2019). Mealworm frass as a potential biofertilizer and abiotic stress tolerance-inductor in plants. *Applied Soil Ecology*, 142, 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.04.016>
- Prasannath, K. (2017). Plant defense-related enzymes against pathogens: A review. *AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences*, 11(1), 38. <https://doi.org/10.4038/agriest.v11i1.33>
- Prauser, H. (1976). *Nocardioides*, a New Genus of the Order Actinomycetales. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 26(1), 58–65. <https://doi.org/10.1099/00207713-26-1-58>
- Punja, Z. K., & Zhang, Y.-Y. (1993). Plant Chitinases and Their Roles in Resistance to Fungal Diseases. *Journal of Nematology*, 25(4), 526–540.
- Quilliam, R. S., Nuku-Adeku, C., Maquart, P., Little, D., Newton, R., & Murray, F. (2020). Integrating insect frass biofertilisers into sustainable peri-urban agro-food systems. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1–8. <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0049>
- Rafferty, S. M., Murphy, J. G., & Cassells, A. C. (2003). Lytic enzyme activity in peat is increased by substrate amendment with chitin: Implications for the control of *Phytophthora fragariae* in *Fragaria vesca*. *Folia Geobotanica*, 38(2), 139–144. <https://doi.org/10.1007/BF02803146>
- Ramírez, M., Rodríguez Pedroso, A., Alfonso, L., & Peniche, C. (2010). Chitin and its derivatives as biopolymers with potential agricultural applications. *Biotecnología Aplicada*, 27, 270–276.

- Rodriguez-Kabana, R., Goday, G., Morgan-Jones, G., & Shelby, R. A. (1983). The determination of soil chitinase activity: Conditions for assay and ecological studies. *Plant and Soil*, 75(1), 95–106.
- Sago, Y. (2016). Effects of Light Intensity and Growth Rate on Tipburn Development and Leaf Calcium Concentration in Butterhead Lettuce. *HortScience*, 51(9), 1087–1091. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI10668-16>
- Sahai, A. S., & Manocha, M. S. (1993). Chitinases of fungi and plants: Their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiology Reviews*, 11(4), 317–338. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00004.x>
- Salas-Ovilla, R., Gálvez-López, D., Vázquez-Ovando, A., Salvador-Figueroa, M., & Rosas-Quijano, R. (2019). Isolation and identification of marine strains of *Stenotrophomonas maltophilia* with high chitinolytic activity. *PeerJ*, 7, e6102. <https://doi.org/10.7717/peerj.6102>
- Salomone, R., Saija, G., Mondello, G., Giannetto, A., Fasulo, S., & Savastano, D. (2017). Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 140, 890–905. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.06.154>
- Saqib, A. A. N., & Whitney, P. J. (2011). Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di-saccharide sugars. *Biomass and Bioenergy*, 35(11), 4748–4750. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.09.013>
- Saraihom, S. (2015). *Characterization of Endoglucanase and Genome Analysis of Lysobacter Enzymogenes Isolated from Tropical Soil*. Chulalongkorn University.
- Sauer, C., Baur, B., & Lutz, M. (2020). Pilzkrankheiten an Salaten Teil 1: Bodenbürtige Krankheiten und Salatfäulen. *Pflanzen AgroScope Transfer*, 326, 6.
- Schmitt, E., & de Vries, W. (2020). Potential benefits of using *Hermetia illucens* frass as a soil amendment on food production and for environmental impact reduction. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 25, 100335. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.03.005>
- Setti, L., Francia, E., Pulvirenti, A., Gigliano, S., Zaccardelli, M., Pane, C., Caradonia, F., Bortolini, S., Maistrello, L., & Ronga, D. (2019). Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* (L.), Diptera: Stratiomyidae) larvae processing residue in peat-based growing media. *Waste Management*, 95, 278–288. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.06.017>
- Shannon, M. C., & Grieve, C. M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78(1–4), 5–38. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00189-7)
- Sharp, R. G. (2013). A Review of the Applications of Chitin and Its Derivatives in Agriculture to Modify Plant-Microbial Interactions and Improve Crop Yields. *Agronomy*, 3(4), 757–793. <https://doi.org/10.3390/agronomy3040757>

- Shivalee, A., Divatar, M., Gajare, S., Ahmed, S., & Lingappa, K. (2016). ISOLATION AND SCREENING OF SOIL MICROBES FOR EXTRACELLULAR CHITINASE ACTIVITY. *Journal of Advanced Scientific Research*, 7, 10–14.
- Sigma-Aldrich. (2020). Sigma-Aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html>
- Souza, C. P., Burbano-Rosero, E. M., Almeida, B. C., Martins, G. G., Albertini, L. S., & Rivera, I. N. G. (2009). Culture medium for isolating chitinolytic bacteria from seawater and plankton. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(11), 2079–2082. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0098-z>
- Stenberg, B., Johansson, M., Pell, M., Sjö Dahl-Svensson, K., Stenström, J., & Torstensson, L. (1998). Microbial biomass and activities in soil as affected by frozen and cold storage. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(3), 393–402. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00125-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00125-9)
- Suantika, G., Putra, R. E., Hutami, R., & Rosmiati, M. (2017). Application of Compost Produced by Bioconversion of Coffee Husk by Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia Illucens*) as Solid Fertilizer to Lettuce (*Lactuca Sativa* Var. *Crispa*). *Proceedings of the International Conference on Green Technology*, 8(1), 20–26.
- Thompson, S. E., Smith, M., Wilkinson, M. C., & Peek, K. (2001). Identification and Characterization of a Chitinase Antigen from *Pseudomonas aeruginosa* Strain 385. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.*, 67, 8.
- Ueno, H., & Miyashita, K. (2000). Inductive production of chitinolytic enzymes in soil microcosms using chitin, other carbon-sources, and chitinase-producing *Streptomyces*. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(4), 863–871. <https://doi.org/10.1080/00380768.2000.10409152>
- Vallad, G. E., Qin, Q.-M., Grube, R., Hayes, R. J., & Subbarao, K. V. (2006). Characterization of Race-Specific Interactions Among Isolates of *Verticillium dahliae* Pathogenic on Lettuce. *Phytopathology*®, 96(12), 1380–1387. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1380>
- Wartenberg, S. (2018). *Reduzierung des Phosphoreinsatzes im Zierpflanzenbau*. 98.
- Wu, X., Cai, R., Wang, X., Wu, N., & Xu, X. (2020). Study on Effects of Black Soldier Fly Feces on Rice Growth. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 450, 012099. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/450/1/012099>

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chemische Struktur von Chitin (Berezina, 2016).....	16
Abbildung 2: Herstellung von Chitosan durch Hydrolyse der <i>N</i> -Acetyl-Gruppe in Chitin (Berezina, 2016).....	16
Abbildung 3: Kotpellets im Rohzustand	23
Abbildung 4: Gemahlene Kotpellets.....	23
Abbildung 5: Übertragung von <i>P. ultimum</i> für den Kressetest.....	23
Abbildung 6: Fertige Versuchseinheit beim Kressetest	23
Abbildung 7: Messung der Sposshöhe im Kressetest	24
Abbildung 8: Zeitstrahl des Topfversuchs.....	27
Abbildung 9: Kopfsalatsämlinge sieben Tage nach der Aussaat.....	28
Abbildung 10: Pikierte Kopfsalatsämlinge.....	28
Abbildung 11: Fünf Wochen alte Kopfsalatsetzlinge.....	28
Abbildung 12: Übertragung von <i>R. solani</i> auf Hirse.....	28
Abbildung 13: <i>R. solani</i> nach neun Tagen Inkubation	28
Abbildung 14: <i>V. dahliae</i> nach neun Tagen Inkubation mit Sporenbildung	28
Abbildung 15: Zerteilung des Inokulats mit dem Zwiebelhacker.....	29
Abbildung 16: Anmischung des Grundssubstrates.....	29
Abbildung 17: Hirseinomkulat mit <i>R. solani</i> auf Malzagar-Medium.....	29
Abbildung 18: Hirseinokulat mit <i>V. dahliae</i> auf PDA-Medium	29
Abbildung 19: Mehlwurm-Frass	29
Abbildung 20: Befüllte Plastiktöpfe mit Substrat	29
Abbildung 21: Anordnung der Töpfe in der Klimakammer.....	30
Abbildung 22: Bestimmung des Trockengehalts von Substrat	30
Abbildung 23: 10 g Chitin in 100 ml 32% HCl nach 24 h	33
Abbildung 24: Lösungsvorgang von Chitin in 37% HCl	33
Abbildung 25: Chitin in 37% HCl komplett aufgelöst.....	33
Abbildung 26: 50 ml Chitin-HCl Lösung in 200 ml eisgekühltem 50% Ethanol.....	33
Abbildung 27: Sediment des filtrierten kolloidalen Chitins	34
Abbildung 28: Filtration des Chitins mit Absaugtrichter	34
Abbildung 29: 100-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar	35
Abbildung 30: 1000-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar	35
Abbildung 31: 10'000-fache Verdünnung der Probe V2b2 des Topfversuchs auf Chitinagar	35
Abbildung 32: 10-fache Verdünnung der Probe V2a6 des Topfversuchs auf Chitinagar	35
Abbildung 33: Pflanzenmaterial im Mörser mit Acetat-Puffer	37

Abbildung 34: Gemörsertes Pflanzenmaterial mit Acetat-Puffer.....	37
Abbildung 35: Zentrifugiertes Enzymextrakt der Pflanzenprobe.....	37
Abbildung 36: Schema der 96-Well-Titerplatte für die Messung der Endochitinase-Aktivität mit 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-Triacetylchitotriose als Chitinase-Substrat	38
Abbildung 37: Schema der 96-Well-Titerplatte für die Messung der Exochitinase-Aktivität mit Nitrophenyl N-Acetyl- β -D-Glucosaminide oder 4-Nitrophenyl N,N'-Diacetyl- β -D-Chitobioside als Chitinase-Substrat	38
Abbildung 38: Dinitrosalicylidsäure	39
Abbildung 39: Erhitzung der Proben in kochendem Wasser	40
Abbildung 40: Proben nach dem Kochen; von links nach rechts: Blank, Chitinase-Enzym von <i>T. viride</i> , Pflanzen-Enzymextrakt	40
Abbildung 41: Standardkurve von N-Acetylglucosamin bei 575 nm gemessen mit der DNSA-Methode (Eldin, 2009).....	40
Abbildung 42: Standardkurve von N-Acetylglucosamin bei 540 nm gemessen mit der DNSA-Methode (Saraihom, 2015)	41
Abbildung 43: Höhenwachstum von Kresse ohne <i>Pythium ultimum</i> ; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.	43
Abbildung 44: Höhenwachstum von Kresse mit <i>Pythium ultimum</i> ; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.	44
Abbildung 45: Krankheitsbefall von Kresse mit <i>Pythium ultimum</i> ; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.	44
Abbildung 46: Kresstest 1 mit Grundsubstrat 1 und <i>P. ultimum</i>	45
Abbildung 47: Kresstest 1 mit Grundsubstrat 2 und <i>P. ultimum</i>	45
Abbildung 48: Varianten K1 und K1P von Kresstest 2.....	45
Abbildung 49: Höhenwachstum bei Kresstest 2, Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn Post-hoc-Test.....	46
Abbildung 50: Krankheitsbefall bei Kresstest 2.....	46
Abbildung 51: Varianten V1P und K1 von Kresstest 2.....	47
Abbildung 52: Varianten V1P, V2P und V3P von Kresstest 2 mit <i>P. ultimum</i>	47
Abbildung 53: Wachstumshöhe von Kresstest 3; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.	48
Abbildung 54: Koloniezahln der Varianten mit Frass im Kresstest 3; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	49
Abbildung 55: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 1	50

Abbildung 56: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 2	51
Abbildung 57: Temperaturmesswerte von Logger Nr. 3	51
Abbildung 58: Luftfeuchtwerte von Logger Nr. 1–3	52
Abbildung 59: Wurzeln der Varianten mit <i>V. dahliae</i>	53
Abbildung 60: Wurzeln der Varianten mit <i>R. solani</i>	53
Abbildung 61: Pilzhyphen auf dem Substrat im Topfversuch nach zwei Wochen	54
Abbildung 62: Fäule der untersten Blätter nach sechs Wochen im Topfversuch	56
Abbildung 63: Blattflecken nach sechs Wochen im Topfversuch	56
Abbildung 64: Kopfsalat mit Blütenstand	57
Abbildung 65: Verlauf der Glucosaminidase-Aktivität	59
Abbildung 66: β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität im Substrat nach zwei Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.....	59
Abbildung 67: Chitobiosidase-Aktivität im Substrat zwei Wochen nach der Pflanzung; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.....	60
Abbildung 68: Verlauf der Chitinase-Aktivität im Substrat	61
Abbildung 69: Chitinaseaktivität im Substrat nach zwei Wochen gemessen mit DNSA; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.....	62
Abbildung 70: Verlauf der Anzahl chitinolytischer Mikroorganismen im Substrat	63
Abbildung 71: Kolonienanzahl nach zwei Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	64
Abbildung 72: Kolonienanzahl nach fünf Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	65
Abbildung 73: Kolonienanzahl nach zehn Wochen.....	66
Abbildung 74: Boxplot des Höhenwachstums von Kressetest 1	93
Abbildung 75: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 1	94
Abbildung 76: Boxplot des Höhenwachstums von Kressetest 2.....	95
Abbildung 77: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 2	95
Abbildung 78: Boxplot der Wachstumshöhe von Kressetest 3	97
Abbildung 79: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 3	97
Abbildung 80: Boxplot der Glucosaminidase-Aktivität von Kressetest 3.....	98
Abbildung 81: Boxplot der Kolonienanzahl von Kressetest 3	98
Abbildung 82: Q-Q Plot der wurzeltransformierten Daten der Kolonienanzahl von Kressetest 3 ...	99
Abbildung 83: Boxplot der Enchochitinase-Aktivität gemessen mit Assay-Kit	100

Abbildung 84: Boxplot der Chitobiosidase-Aktivität	100
Abbildung 85: Boxplot der Anfangswerte der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität	101
Abbildung 86: Boxplot der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach zwei Wochen	102
Abbildung 87: Boxplot der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach fünf Wochen	103
Abbildung 88: Boxplot der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach drei Wochen	104
Abbildung 89: Boxplot der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach 26 Tagen	104
Abbildung 90: Boxplot der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA	105
Abbildung 91: Boxplot der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach zwei Wochen	106
Abbildung 92: Boxplot der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach 5 Wochen .	106
Abbildung 93: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zwei Wochen	107
Abbildung 94: Q-Q Plot der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach zwei Wochen	108
Abbildung 95: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach fünf Wochen	108
Abbildung 96: Q-Q Plot der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach fünf Wochen	109
Abbildung 97: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zehn Wochen	109
Abbildung 98: Q-Q Plot der Log10-transformierten Kolonienanzahl nach zehn Wochen	110
Abbildung 99: Boxplot der Blattanzahl nach vier Wochen	111
Abbildung 100: Boxplot der Blattanzahl nach sechs Wochen.....	111
Abbildung 101: Boxplot der Blattanzahl nach acht Wochen	112
Abbildung 102: Boxplot der Frischmasse der Wurzeln	113
Abbildung 103: Boxplot der Frischmasse des Sprosses.....	114
Abbildung 104: Boxplot der Trockenmasse der Wurzeln.....	114
Abbildung 105: Boxplot der Trockenmasse des Sprosses	115
Abbildung 106: Monomere von reduzierenden Zuckern mit Aldehydgruppe (eingekreist); a) Glucose, b) Galactose, c) Mannose, d) Glycerinaldehyd (Gaspar, 2012).....	116
Abbildung 107: Chemische Struktur von Disacchariden in glycosidischer Bindung; a) Laktose, b) Maltose (Gaspar, 2012)	117

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Chemische Eigenschaften von Frass aus verschiedenen Untersuchungen, TM = Trockenmasse, EC = dS m ⁻¹ , NPK = %	11
Tabelle 2: Varianten von Kressetest 1	22
Tabelle 3: Referenzbilder zur Bestimmung des Befallsdrucks im Kressetest	24
Tabelle 4: Varianten von Kressetest 2	25
Tabelle 5: Varianten von Kressetest 3	26
Tabelle 6: Varianten des Topfversuchs	27
Tabelle 7: Verwendete Agar-Rezepte zur Auszählung von chitinolytischen Mikroorganismen	31
Tabelle 8: Trockengehalt der Substrate von Kressetest 1	43
Tabelle 9: Trockenmasse der Substratvarianten von Kressetest 2	45
Tabelle 10: Signifikante p-Werte und Z-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests des Höhenwachstums bei	46
Tabelle 11: Signifikante p-Werte und Z-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests des Krankheitsbefalls von	47
Tabelle 12: Chemische Eigenschaften der Substrate und des Frasses; TM = Trockenmasse; NH ₄ in millimol/l Extrakt; *nicht im Topfversuch verwendet	50
Tabelle 13: Frisch- und Trockenmasse der Varianten mit <i>V. dahliae</i> ; SFM = Sprossfrischmasse, STM = Sprosstrockenmasse, WFM = Wurzelfrischmasse, WTM = Wurzeltrockenmasse; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei p < 0.05 nach Tukey-Post-hoc-Test, n.s = nicht signifikant.	52
Tabelle 14: Frisch- und Trockenmasse der Varianten mit <i>R. solani</i> ; STM = Sprosstrockenmasse, WFM = Wurzelfrischmasse, WTM = Wurzeltrockenmasse, Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei p < 0.05 nach Tukey-Post-hoc-Test, n.s = nicht signifikant.	52
Tabelle 15: Vergleich der Pflanzen mit Mehlwurm-Frass und der Kontrollgruppe nach zwei Wochen im Topfversuch	53
Tabelle 16: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>V. dahliae</i> nach vier Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei p < 0.05 nach Tukey Post-hoc-Test.	54
Tabelle 17: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>R. solani</i> nach vier Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei p < 0.05 nach Tukey-Post-hoc-Test.	54

Tabelle 18: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>V. dahliae</i> nach sechs Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	55
Tabelle 19: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>R. solani</i> nach sechs Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test	55
Tabelle 20: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>V. dahliae</i> nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	56
Tabelle 21: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>R. solani</i> nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	56
Tabelle 22: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>V. dahliae</i> nach zehn Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Dunn-Post-hoc-Test.	57
Tabelle 23: Pflanzen des Topfversuchs mit <i>R. solani</i> nach acht Wochen; Varianten, markiert mit demselben Buchstaben, unterscheiden sich nicht signifikant bei $p < 0.05$ nach Tukey-Post-hoc-Test.	57
Tabelle 24: Signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität von Messung Nr. 1	60
Tabelle 25: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Chitobiosidase-Aktivität	60
Tabelle 26: Signifikante p-Werte des Dunn-Post-hoc-Tests der Chitinaseaktivität nach zwei Wochen gemessen mit DNSA.	62
Tabelle 27: Signifigikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests des Verlaufs der Kolonienanzahl von chitinolytischen Mikroorganismen	63
Tabelle 28: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach zwei Wochen, Log ₁₀ transformiert.	64
Tabelle 29: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach fünf Wochen, Log ₁₀ transformiert.	65
Tabelle 30: Signifikante p-Werte des Tukey-Post-hoc-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen, Log ₁₀ transformiert.	66
Tabelle 31: Rohdaten von Kresstest 1	93
Tabelle 32: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Höhenwachstums von Kresstest 1	93
Tabelle 33: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kresstest 1	94
Tabelle 34: Rohdaten von Kresstest 2	94
Tabelle 35: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Höhenwachstums von Kresstest 2	95

Tabelle 36: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kressetest 2.....	95
Tabelle 37: Rohdaten von Kressetest 3.....	96
Tabelle 38: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Wachstumshöhe von Kressetest 3.....	97
Tabelle 39: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kressetest 3.....	97
Tabelle 40: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Glucosaminidase-Aktivität von Kressetest 3.....	98
Tabelle 41: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl von Kressetest 3.....	98
Tabelle 42: Rohdaten der Endochitinase-Aktivität im Topfversuch	99
Tabelle 43: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Endochitinase-Aktivität.....	100
Tabelle 44: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitobiosidase-Aktivität.....	100
Tabelle 45: Rohdaten der Anfangswerte der Glucosaminidase-Aktivität im Topfversuch	101
Tabelle 46: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests von den Anfangswerten der Glucosaminidase-Aktivität	101
Tabelle 47: Rohdaten der Glucosaminidase-Aktivität im Topfversuch nach zwei und fünf Wochen	102
Tabelle 48: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach zwei Wochen.....	102
Tabelle 49: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach fünf Wochen.....	103
Tabelle 50: Rohdaten der Pflanzenchitinase-Messung mit DNSA nach drei und vier Wochen....	103
Tabelle 51: W- und P-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach drei Wochen.....	104
Tabelle 52: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach vier Wochen.....	104
Tabelle 53: Rohdaten der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Topfversuch gemessen mit DNSA	104
Tabelle 54: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA	105
Tabelle 55: Rohdaten der Chitinaseaktivität im Topfsubstrat nach zwei und fünf Wochen gemessen mit DNSA	105
Tabelle 56: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach zwei Wochen.....	106
Tabelle 57: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach fünf Wochen	106
Tabelle 58: Rohdaten der Kolonienanzahl im Topfsubstrat nach zwei, fünf und zehn Wochen.	107
Tabelle 59: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zwei Wochen.....	107

Tabelle 60: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach zwei Wochen	108
Tabelle 61: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen....	108
Tabelle 62: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach fünf Wochen	109
Tabelle 63: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen....	109
Tabelle 64: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach zehn Wochen.....	110
Tabelle 65: Rohdaten der Blattanzahl nach vier, sechs und acht Wochen.....	110
Tabelle 66: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach vier Wochen.....	111
Tabelle 67: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach sechs Wochen	111
Tabelle 68: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach acht Wochen.....	112
Tabelle 69: Rohdaten der Wurzel- und Sprossmasse	113
Tabelle 70: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Frischmasse der Wurzeln.....	113
Tabelle 71: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Frischmasse des Sprosses	114
Tabelle 72: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Trockenmasse der Wurzeln	114
Tabelle 73: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Trockenmasse des Sprosses.....	115

Anhangsverzeichnis

Anhang 1: Statistik und Rohdaten	S. 93
Anhang 2: Messung der Chitinaseaktivität	S. 116
Anhang 3: Aussaatsubstrat Floradur Block Bio	S. 119
Anhang 4: Substratanalysen	S. 120
Anhang 5: Trianum-P WDG – <i>Trichoderma harzianum</i>	S. 126
Anhang 6: Chitinase Assay Kit	S. 128
Anhang 7: Bestimmung des pH- und EC-Werts von Substrat	S. 132
Anhang 8: Plagiatserklärung	S. 134

Anhang 1 – Statistik und Rohdaten

Kressetest 1

Tabelle 31: Rohdaten von Kressetest 1

Variante	Hoehe	Befall	Substrat	Frass	Pilz
K1	6,5	0 S1		0 Nein	
K1	6	0 S1		0 Nein	
K1	6	0 S1		0 Nein	
K1	6,5	0 S1		0 Nein	
K1	5,5	0 S1		0 Nein	
K1	6,5	0 S1		0 Nein	
K1	5,5	0 S1		0 Nein	
K1	7	0 S1		0 Nein	
K1	7	0 S1		0 Nein	
K1	6,5	0 S1		0 Nein	
K1P	3,5	50 S1		0 Ja	
K1P	4	90 S1		0 Ja	
K1P	4	33 S1		0 Ja	
K1P	4,5	50 S1		0 Ja	
K1P	3,5	100 S1		0 Ja	
K1P	3,5	75 S1		0 Ja	
K1P	3,5	50 S1		0 Ja	
K1P	3	75 S1		0 Ja	
K1P	3	75 S1		0 Ja	
K1P	2,5	75 S1		0 Ja	
V1	7,5	0 S1		20 Nein	
V1	7,5	0 S1		20 Nein	
V1	7	0 S1		20 Nein	
V1	7	0 S1		20 Nein	
V1	7,5	0 S1		20 Nein	
V1	7	0 S1		20 Nein	
V1	7,5	0 S1		20 Nein	
V1	6,5	0 S1		20 Nein	
V1	7,5	0 S1		20 Nein	
V1	6,5	0 S1		20 Nein	
V1P	6	10 S1		20 Ja	
V1P	5,5	25 S1		20 Ja	
V1P	5,5	25 S1		20 Ja	
V1P	4,5	33 S1		20 Ja	
V1P	7	25 S1		20 Ja	
V1P	6	25 S1		20 Ja	
V1P	5,5	50 S1		20 Ja	
V1P	5,5	0 S1		20 Ja	
V1P	5,5	10 S1		20 Ja	
V1P	5,5	10 S1		20 Ja	
V3	7,5	0 S1		10 Nein	
V3	7	0 S1		10 Nein	
V3	6,5	0 S1		10 Nein	
V3	7	0 S1		10 Nein	
V3	7,5	0 S1		10 Nein	
V3	6,5	0 S1		10 Nein	
V3	7	0 S1		10 Nein	
V3	7,5	0 S1		10 Nein	
V3	7	0 S1		10 Nein	
V3P	4,5	50 S1		10 Ja	
V3P	6	33 S1		10 Ja	
V3P	5	25 S1		10 Ja	
V3P	4,5	10 S1		10 Ja	
V3P	5	25 S1		10 Ja	
V3P	4	50 S1		10 Ja	
V3P	4,5	50 S1		10 Ja	
V3P	4,5	33 S1		10 Ja	
V3P	5	50 S1		10 Ja	
V3P	4,5	75 S1		10 Ja	
K2	5,5	0 S2		0 Nein	
K2	6	0 S2		0 Nein	
K2	5,5	0 S2		0 Nein	
K2	7	0 S2		0 Nein	
K2	6	0 S2		0 Nein	
K2	4,5	0 S2		0 Nein	
K2	6	0 S2		0 Nein	
K2	6,5	0 S2		0 Nein	
K2	6	0 S2		0 Nein	
K2P	3,5	10 S2		0 Ja	
K2P	4,5	100 S2		0 Ja	
K2P	3	75 S2		0 Ja	
K2P	4,5	75 S2		0 Ja	
K2P	4	75 S2		0 Ja	
K2P	4,5	75 S2		0 Ja	
K2P	5,5	90 S2		0 Ja	
K2P	5	50 S2		0 Ja	
K2P	5,5	75 S2		0 Ja	
K2P	4,5	33 S2		0 Ja	
V2	7,5	0 S2		20 Nein	
V2	7,5	0 S2		20 Nein	
V2	7	0 S2		20 Nein	
V2	8	0 S2		20 Nein	
V2	7	0 S2		20 Nein	
V2	6,5	0 S2		20 Nein	
V2	7	0 S2		20 Nein	
V2	7	0 S2		20 Nein	
V2	7	0 S2		20 Nein	
V2P	6	75 S2		20 Ja	
V2P	5,5	25 S2		20 Ja	
V2P	5,5	33 S2		20 Ja	
V2P	6,5	10 S2		20 Ja	
V2P	5,5	10 S2		20 Ja	
V2P	5	10 S2		20 Ja	
V2P	6	33 S2		20 Ja	
V2P	5	10 S2		20 Ja	
V2P	6,5	25 S2		20 Ja	
V2P	6	25 S2		20 Ja	
V4	6	0 S2		10 Nein	
V4	8	0 S2		10 Nein	
V4	6,5	0 S2		10 Nein	
V4	7,5	0 S2		10 Nein	
V4	6	0 S2		10 Nein	
V4	6,5	0 S2		10 Nein	
V4	7	0 S2		10 Nein	
V4	6,5	0 S2		10 Nein	
V4	5,5	0 S2		10 Nein	
V4	6,5	0 S2		10 Nein	
V4P	6,5	50 S2		10 Ja	
V4P	5,5	50 S2		10 Ja	
V4P	6	10 S2		10 Ja	
V4P	6,5	10 S2		10 Ja	
V4P	5,5	10 S2		10 Ja	
V4P	6,5	10 S2		10 Ja	
V4P	6	33 S2		10 Ja	
V4P	6	10 S2		10 Ja	
V4P	6	10 S2		10 Ja	
V4P	5,5	25 S2		10 Ja	

Wachstumshöhe

Beim Höhenwachstum sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 31) bei K1, K1P, K2, K2P, V2P und V4 normalverteilt aus, jedoch weichen die Varianten V1, V1P, V2, V3, V3P und V4P von der Normalverteilung ab (Abbildung 74). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 32).

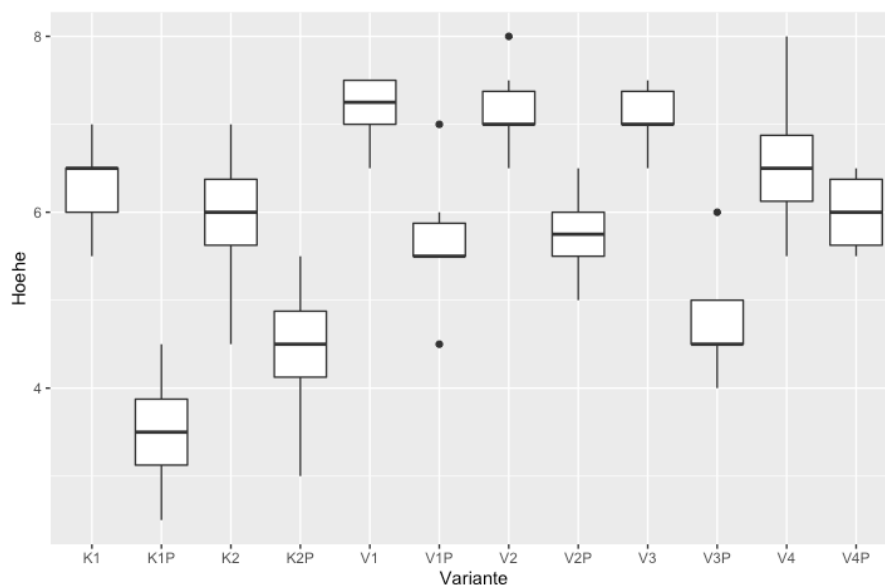


Tabelle 32: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Höhenwachstums von Kressetest 1

Variante	W-Wert	p-Wert
K1	0.892	0.177
K1P	0.953	0.703
K2	0.912	0.338
K2P	0.929	0.441
V1	0.781	< 0.01
V1P	0.826	< 0.05
V2	0.841	< 0.05
V2P	0.910	0.258
V3	0.833	< 0.05
V3P	0.835	< 0.05
V4	0.936	0.514
V4P	0.832	< 0.05

Abbildung 74: Boxplot des Höhenwachstums von Kressetest 1

Krankheitsbefall

Beim Krankheitsbefall sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 31) bei K1P, K2P, V1P und V3P normalverteilt aus (Abbildung 75). Bei V2P und V4P besteht eine Abweichung der Normalverteilung. Der Shapiro-Wilk-Test zeigte dazu unterschiedliche Ergebnisse (Tabelle 33).

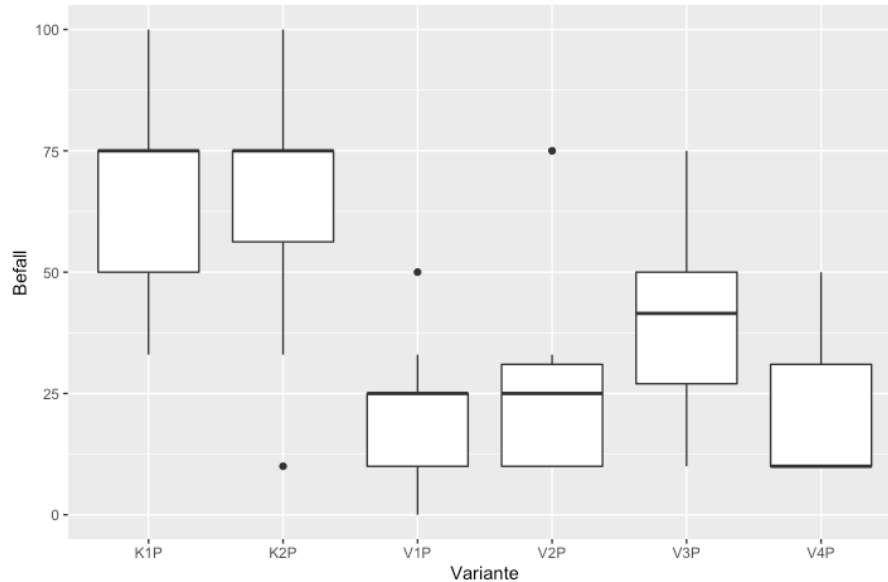


Tabelle 33: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kressetest 1

Variante	W-Wert	p-Wert
K1P	0.953	0.703
K2P	0.929	0.441
V1P	0.826	< 0.05
V2P	0.907	0.258
V3P	0.835	< 0.05
V4P	0.832	< 0.05

Abbildung 75: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 1

Kressetest 2

Tabelle 34: Rohdaten von Kressetest 2

Variante	Hoehe	Befall	Frass	Pilz	Variante	Hoehe	Befall	Frass	Pilz
K1	6.5	0	0	Nein	V2P	4.5	33	20	Ja
K1	7.5	0	0	Nein	V2P	5.5	33	20	Ja
K1	7.5	0	0	Nein	V2P	6	25	20	Ja
K1	7	0	0	Nein	V2P	6.5	33	20	Ja
K1	7	0	0	Nein	V2P	5	50	20	Ja
K1	8	0	0	Nein	V2P	4.5	33	20	Ja
K1	7	0	0	Nein	V2P	4.5	0	20	Ja
K1	7.5	0	0	Nein	V2P	4	33	20	Ja
K1	7.5	0	0	Nein	V2P	4	0	20	Ja
K1	7.5	0	0	Nein	V2P	5	10	20	Ja
K1P	6.5	0	0	Ja	V3P	0	100	20	Ja
K1P	5.5	10	0	Ja	V3P	2.5	100	20	Ja
K1P	6	10	0	Ja	V3P	0	100	20	Ja
K1P	5.5	10	0	Ja	V3P	1.5	100	20	Ja
K1P	5.5	10	0	Ja	V3P	3.5	100	20	Ja
K1P	4.5	33	0	Ja	V3P	0	100	20	Ja
K1P	5	10	0	Ja	V3P	2.5	100	20	Ja
K1P	5	25	0	Ja	V3P	0	100	20	Ja
K1P	4.5	33	0	Ja	V3P	0	100	20	Ja
K1P	4.5	25	0	Ja	V3P	2.5	100	20	Ja
V1P	7	0	20	Ja	K2P	6	0	0	Ja
V1P	6.5	0	20	Ja	K2P	5.5	10	0	Ja
V1P	6.5	0	20	Ja	K2P	6.5	10	0	Ja
V1P	7.5	0	20	Ja	K2P	5.5	25	0	Ja
V1P	7	0	20	Ja	K2P	5	10	0	Ja
V1P	7	0	20	Ja	K2P	6	10	0	Ja
V1P	6.5	0	20	Ja	K2P	5.5	10	0	Ja
V1P	6.5	0	20	Ja	K2P	5.5	10	0	Ja
V1P	6	10	20	Ja	K2P	6	0	0	Ja
V1P	7	0	20	Ja	K2P	5.5	10	0	Ja

Wachstumshöhe

Beim Höhenwachstum sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 34) mit Ausnahme von der Variante V3P normalverteilt aus (Abbildung 76). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei V3P eine Abweichung von der Normalverteilung (Tabelle 35).

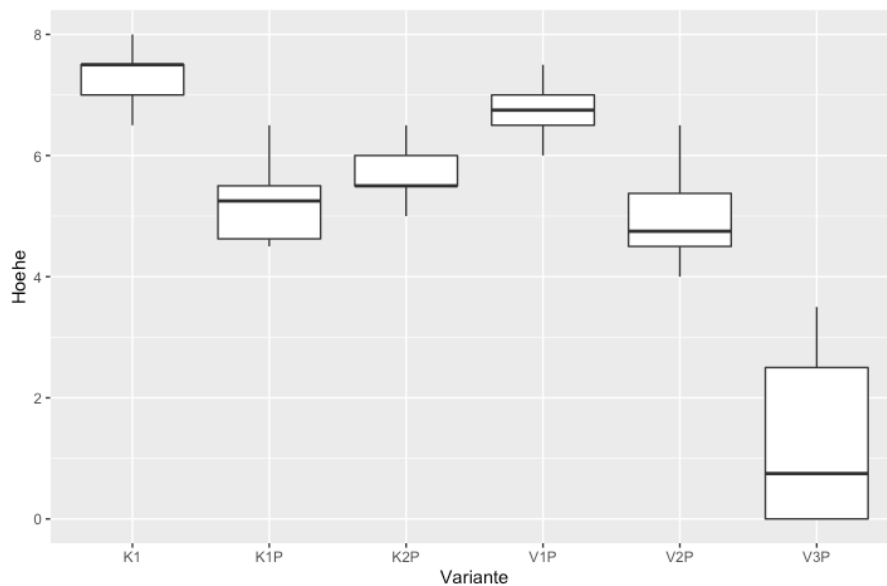


Tabelle 35: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Höhenwachstums von Kressetest 2

Variante	W-Wert	p-Wert
K1	0.890	0.172
K1P	0.909	0.276
K2P	0.890	0.172
V1P	0.906	0.258
V2P	0.916	0.325
V3P	0.791	0.011

Abbildung 76: Boxplot des Höhenwachstums von Kressetest 2

Krankheitsbefall

Beim Krankheitsbefall sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 34) nur bei den Varianten K1P und V2P normalverteilt aus (Abbildung 77). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 36). Für K1 und V3P konnte kein p-Wert ermittelt werden, da alle Messwerte den gleichen Wert hatten.

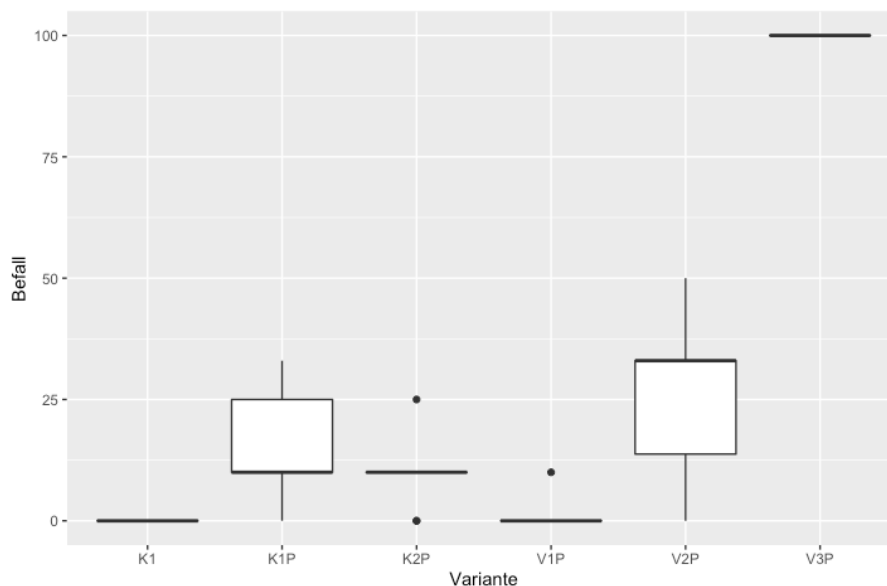


Tabelle 36: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kressetest 2

Variante	W-Wert	p-Wert
K1P	0.849	0.057
K2P	0.736	0.002
V1P	0.366	< 0.001
V2P	0.854	0.064

Abbildung 77: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 2

Kressetest 3

Tabelle 37: Rohdaten von Kresstest 3

Variante	Höhe	Befall	Variante	Höhe	Befall	Variante	Absorption	Aktivität	CFU
K1	7.5	0	V2P	6.5	10	K1	0.1117	0.003537	NA
K1	6	10	V2P	6.5	10	K1	0.1183	0.0039401	10000
K1	7	0	V2P	6.5	25	K1	0.1751	0.0074099	NA
K1	7	0	V2P	6.5	10	V3P	0.1145	0.003708	20000
K1	6.5	0	V2P	6.5	10	V3P	0.2881	0.0143128	NA
K1	6.5	0	V2AP	7	25	V3P	0.2732	0.0134026	NA
K1	7	0	V2AP	7	0	V1AP	0.1267	0.0044533	30000
K1	7	0	V2AP	6.5	25	V1AP	0.1108	0.003482	10000
K1	6.5	0	V2AP	6.5	10	V1AP	0.1064	0.0032132	20000
K1	7	0	V2AP	6	33	V1P	0.1173	0.003879	NA
K1P	5	50	V2AP	6.5	10	V1P	0.1078	0.0032987	20000
K1P	6.5	10	V2AP	6	10	V1P	0.1696	0.0070739	10000
K1P	6.5	0	V2AP	6	0	K2P	0.1468	0.0056811	NA
K1P	6.5	10	V2AP	6	10	K2P	0.1285	0.0045632	NA
K1P	6.5	0	V2AP	7	25	K2P	0.1281	0.0045388	NA
K1P	5.5	33	V3P	7	10	V3AP	0.1161	0.0038057	30000
K1P	5.5	50	V3P	6.5	10	V3AP	0.1059	0.0031827	20000
K1P	6	33	V3P	5.5	33	V3AP	0.1119	0.0035492	20000
K1P	6.5	10	V3P	5	25	V2P	0.1176	0.0038974	110000
K1P	6	33	V3P	6	10	V2P	0.1007	0.002865	40000
V1P	6.5	10	V3P	6.5	10	V2P	0.0963	0.0025962	90000
V1P	6	25	V3P	6	10	V2AP	0.098	0.0027001	20000
V1P	6.5	10	V3P	6.5	10	V2AP	0.1143	0.0036958	50000
V1P	6.5	10	V3P	6.5	10	V2AP	0.1479	0.0057483	30000
V1P	6.5	0	V3P	6.5	10	Standard1	0.7969	NA	NA
V1P	6	10	V3AP	6.5	10	Standard2	0.8185	NA	NA
V1P	7.5	0	V3AP	6.5	25	Standard3	0.8278	NA	NA
V1P	7.5	0	V3AP	6.5	0	Blank1	0.0538	NA	NA
V1P	6.5	33	V3AP	6.5	0	Blank2	0.0539	NA	NA
V1P	7	10	V3AP	6.5	33	Blank3	0.0542	NA	NA
V1AP	6.5	0	V3AP	6.5	10	<i>T. viride</i>	2.1629	NA	NA
V1AP	5	75	V3AP	6.5	33				
V1AP	6.5	10	V3AP	7	0				
V1AP	6	25	V3AP	6.5	25				
V1AP	6.5	25	V3AP	7	0				
V1AP	7	0	K2P	6.5	10				
V1AP	6.5	10	K2P	6.5	10				
V1AP	7	10	K2P	7	0				
V1AP	7	0	K2P	6	33				
V1AP	6.5	10	K2P	6.5	10				
V2P	6.5	25	K2P	7	10				
V2P	6.5	10	K2P	6.5	25				
V2P	6.5	10	K2P	6.5	0				
V2P	6	25	K2P	6.5	10				
V2P	6	25	K2P	NA	NA				

Wachstumshöhe

Bei der Wachstumshöhe sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 37) bei den Varianten K1 und V3P normalverteilt aus (Abbildung 78). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 38). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,80} = 1.347$, $p = 0.233$).

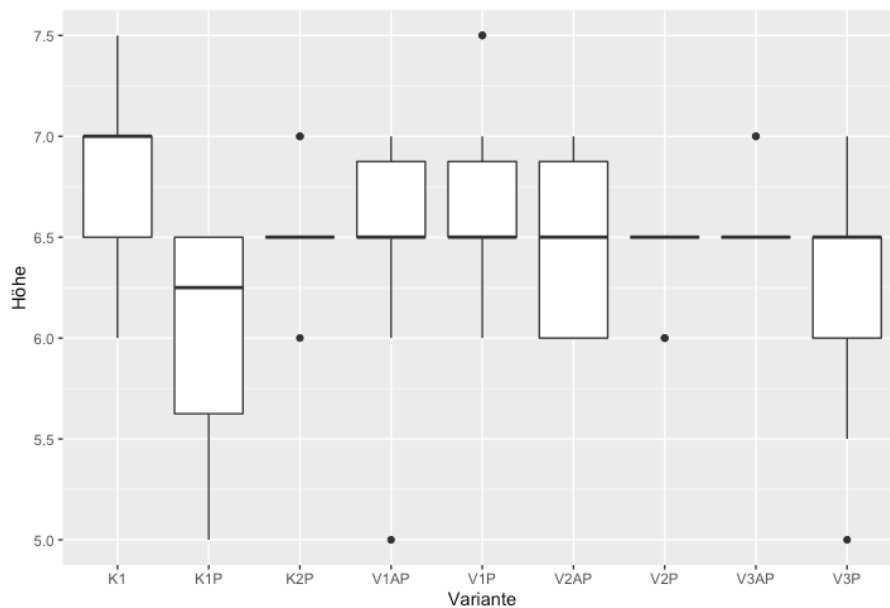


Tabelle 38: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Wachstumshöhe von Kressetest 3

Variante	W-Wert	p-Wert
K1	0.89	0.172
K1P	0.81	< 0.05
K2P	0.781	< 0.05
V1P	0.846	0.051
V1AP	0.778	< 0.01
V2P	0.51	< 0.001
V2AP	0.805	< 0.05
V3P	0.873	0.108
V3AP	0.51	< 0.001

Abbildung 78: Boxplot der Wachstumshöhe von Kressetest 3

Krankheitsbefall

Beim Krankheitsbefall sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 37) bei den Varianten K1P, V1AP und V2AP normalverteilt aus (Abbildung 79). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 39). Der Vergleich der Varianzen ergab keine Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,80} = 2.491$, $p = 0.018$).

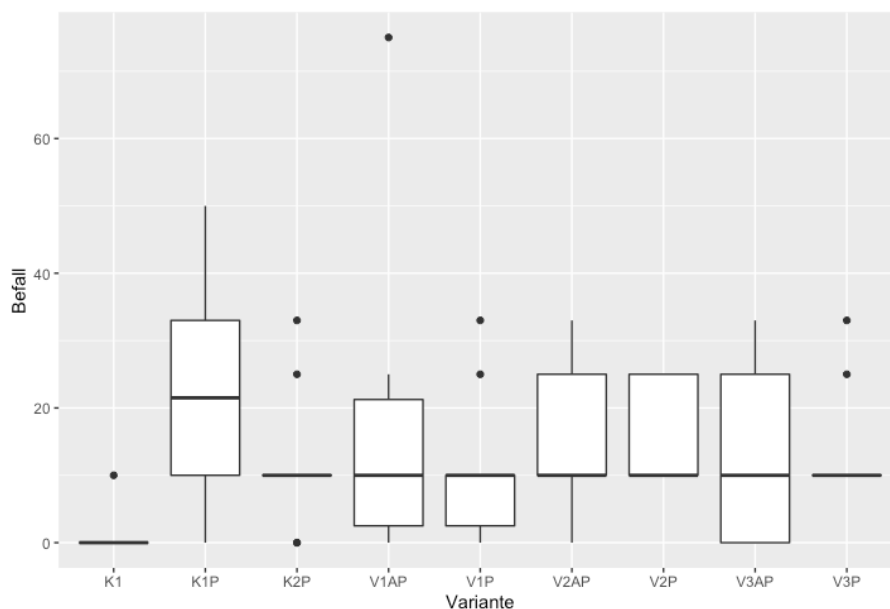


Tabelle 39: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests des Krankheitsbefalls von Kressetest 3

Variante	W-Wert	p-Wert
K1	0.366	< 0.001
K1P	0.871	0.104
K2P	0.826	< 0.05
V1P	0.82	< 0.05
V1AP	0.704	< 0.001
V2P	0.640	< 0.001
V2AP	0.884	0.146
V3P	0.539	< 0.001
V3AP	0.821	< 0.05

Abbildung 79: Boxplot des Krankheitsbefalls von Kressetest 3

Glucosaminidase-Aktivität

Bei der Glucosaminidase-Aktivität sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 37) bei der Variante K2 nicht normalverteilt aus (Abbildung 80). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen

(Tabelle 40). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{7,16} = 0.758$, $p = 0.63$).

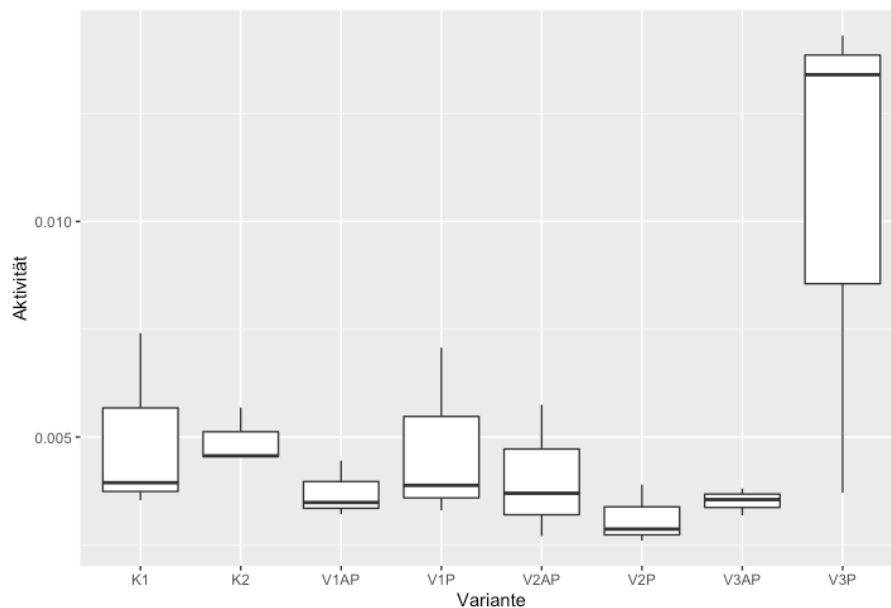


Tabelle 40: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Glucosaminidase-Aktivität von Kressetest 3

Variante	W-Wert	p-Wert
K1	0.827	0.181
K2	0.766	0.036
V1P	0.862	0.274
V1AP	0.903	0.396
V2P	0.897	0.376
V2AP	0.961	0.623
V3P	0.814	0.148
V3AP	0.99	0.806

Abbildung 80: Boxplot der Glucosaminidase-Aktivität von Kressetest 3

Kolonieanzahl

Bei der Variante V3AP sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 37) nicht normalverteilt aus und von den Kontrollvarianten konnte aufgrund der Nullwerte kein Boxplot dargestellt werden (Abbildung 77). Aufgrund von Nullwerten konnte bei den Varianten V3P, V1P und den Kontrollen kein Shapiro-Wilk-Test angewandt werden. Bei V3P gab es eine Abweichung der Normalverteilung (Tabelle 36). Die Logarithmustransformation ergab keine Verbesserung der Normalverteilung. Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{5,12} = 1.054$, $p = 0.431$).

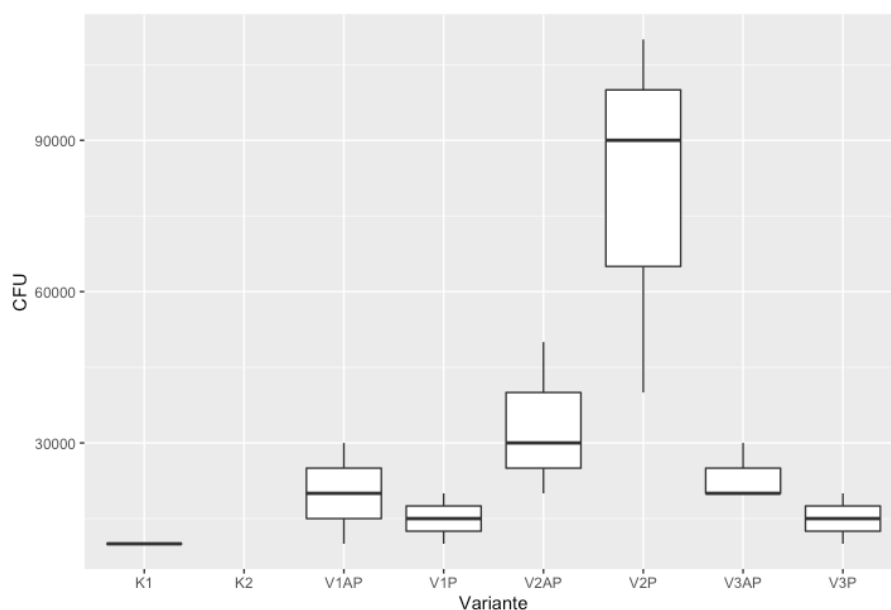


Tabelle 41: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonieanzahl von Kressetest 3

Variante	W-Wert	p-Wert
V1AP	1	1
V2P	0.942	0.537
V2AP	0.964	0.637
V3P	0.75	< 0.001

Abbildung 81: Boxplot der Kolonieanzahl von Kressetest 3

Beim Q-Q Plot der wurzeltransformierten Daten der Kolonienanzahl ohne den Kontrollvarianten (Rohdaten in) liegen die Datenpunkte auf der Geraden (Abbildung 82). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{5,312} = 1.054$, $p = 0.431$).

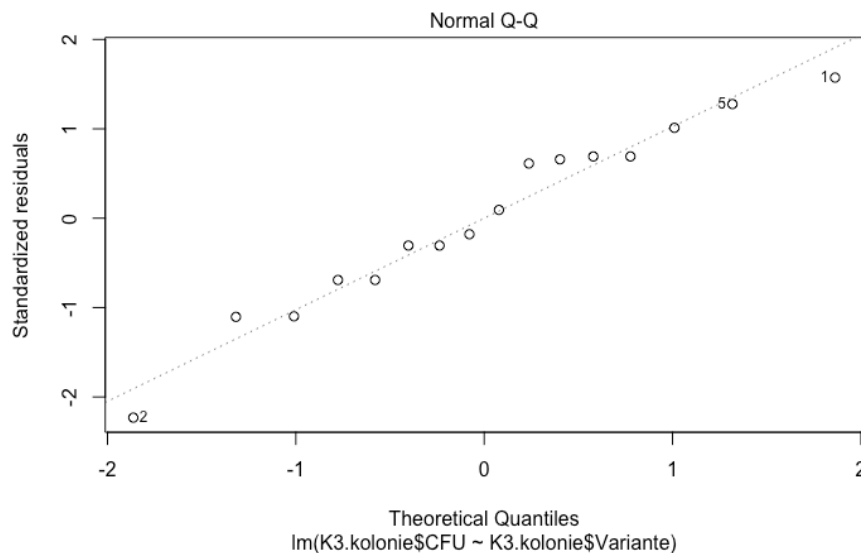


Abbildung 82: Q-Q Plot der wurzeltransformierten Daten der Kolonienanzahl von Kresstest 3

Topfversuch

Chitinaseaktivität gemessen mit Assay-Kit

Endochitinase-Aktivität

Tabelle 42: Rohdaten der Endochitinase-Aktivität im Topfversuch

Probe	Absorption	Aktivität	Probe	Absorption	Aktivität
K29	0.1185	0.00478806	V2b8	0.0663	0.00141509
K26	0.1075	0.00407728	V2b6	0.0902	0.00295942
K22	0.0716	0.00175756	V2b5	0.1375	0.00601577
K21	0.1112	0.00431636	V2b4	0.0835	0.00252649
K3b7	0.0897	0.00292711	K1b1	0.0811	0.00237141
K3b9	0.14579999	0.00655208	K1b4	NA	NA
K3b4	0.0847	0.00260403	K1b3	NA	NA
K3b1	0.0717	0.00176402	K1b8	NA	NA
V1b3	0.1961	0.00980227	Standard	0.77380002	0.04713104
V1b9	0.1165	0.00465883	Blank	0.0444	0
V1b6	0.14040001	0.00620315	<i>T. viride</i>	0.0478	0.0002197
V1b7	0.1283	0.0054213			

Die Daten (Rohdaten in Tabelle 42) sehen bei allen Varianten ausser bei K1b, welche nur ein Messwert aufwies, normalverteilt aus (Abbildung 83). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 43). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{4,12} = 0.252$, $p = 0.903$).

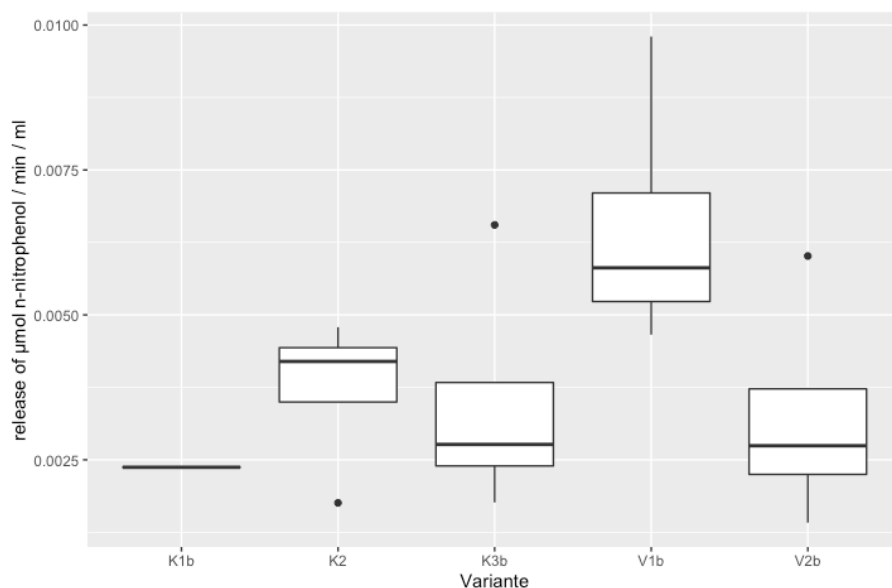


Tabelle 43: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Endochitinase-Aktivität

Variante	W-Wert	p-Wert
K2	0.823	0.150
K3b	0.831	0.171
V1b	0.864	0.275
V2b	0.900	0.430
K1b	-	-

Abbildung 83: Boxplot der Endochitinase-Aktivität gemessen mit Assay-Kit

Chitobiosidase-Aktivität

Beim der Chitobiosidase-Aktivität sehen die Daten bei allen Varianten normalverteilt aus (Abbildung 84). Bei Variante V2a ist jedoch ein Ausreisser nach oben auffällig. Der Shapiro-Wilk Test ergab bei der Variante V2a eine Abweichung von der Normalverteilung (Tabelle 44). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{7,32} = 1.273$, $p = 0.295$).

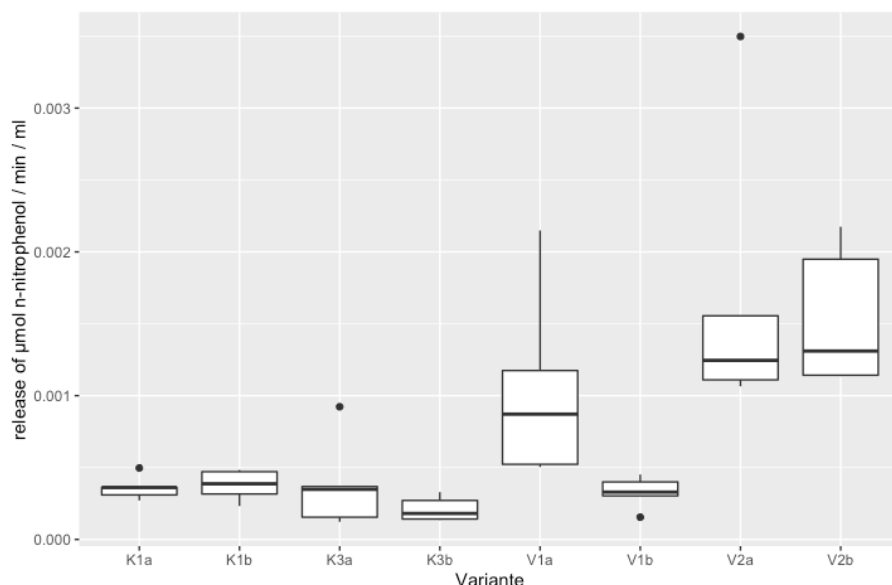


Tabelle 44: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitobiosidase-Aktivität

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.906	0.4421
K1b	0.930	0.598
K3a	0.824	0.126
K3b	0.883	0.322
V1a	0.854	0.209
V1b	0.944	0.545
V2a	0.706	< 0.05
V2b	0.830	0.138

Abbildung 84: Boxplot der Chitobiosidase-Aktivität

β-N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität

Beim Boxplot der Anfangswerte (Rohdaten in Tabelle 45) der Glucosaminidase-Aktivität ist bei der Kontrollvariante und der Variante mit 20% FfW-Frass aufgrund der ähnlich hohen Werte die Normalverteilung schwer zu erkennen (Abbildung 85). Der Shapiro-Wilk-Test zeigte bei allen drei

Varianten eine Normalverteilung an (Tabelle 46). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{2,6} = 1.146$, $p = 0.379$).

Tabelle 45: Rohdaten der Anfangswerte der Glucosaminidase-Aktivität im Topfversuch

Variante	Absorption	Aktivität	Variante	Absorption	Aktivität
K29	0.14040001	0.00471948	S21	0.1193	0.0033864
K26	0.1089	0.00272934	S22	0.13259999	0.00422669
K22	0.1133	0.00300733	S23	0.1338	0.0043025
K210	0.0543	-0.0007202	Standar1	0.79000002	0.04576068
K21	0.0518	-0.0008782	Standard2	0.79809999	0.04627243
Mehl1	1.51900005	0.0918183	Standard3	0.79140002	0.04584913
Mehl2	1.24179995	0.07430502	Blank1	0.0677	0.00012636
Mehl3	1.27110004	0.07615618	Blank2	0.0657	0
FfW1	0.1408	0.00474476	Blank3	0.0657	0
FfW2	0.1048	0.00247031	T.viride	OVER	NA
FfW3	0.1151	0.00312105			

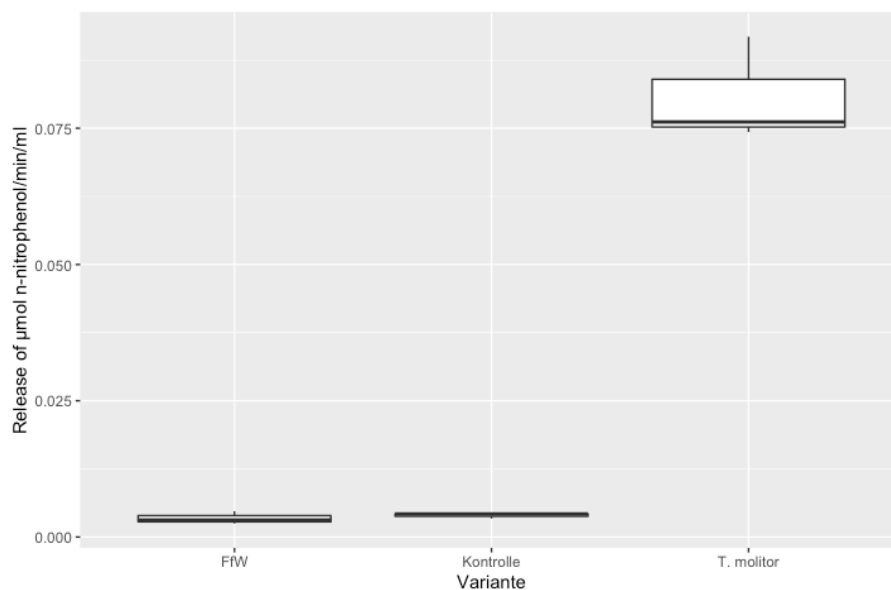


Tabelle 46: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests von den Anfangswerten der Glucosaminidase-Aktivität

Variante	W-Wert	p-Wert
FfW	0.943	0.538
Kontrolle	0.812	0.143
T. molitor	0.828	0.184

Abbildung 85: Boxplot der Anfangswerte der β-N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität

Tabelle 47: Rohdaten der Glucosaminidase-Aktivität im Topfversuch nach zwei und fünf Wochen

Nach zwei Wochen						Nach fünf Wochen					
Variante	Absorption	Aktivität		Variante	Absorption	Aktivität		Variante	Absorption	Aktivität	
V1b1	0.02313333	0		V2a2	0.1172	0.00305398		V1a10	0.1044	0.00044886	
V1b2	0.67949998	0.0393595		V1a3	0.0729	0.0001937		V1a4	0.0881	-0.0007506	
V1b8	0.0771	0.00046488		V1a6	0.0758	0.00038094		V1a8	0.0787	-0.0014422	
V1b5	0.0983	0.00183368		V1a5	0.0861	0.00104597		V1a1	0.0652	-0.0024356	
V1b4	0.0826	0.00081999		V1a8	0.0746	0.00030346		V1a7	0.1258	0.00202355	
K3a4	0.0681	0		V1a9	0.082	0.00078125		V1b6	0.0902	-0.000596	
K3a1	0.0664	0		K1b6	0.0704	3.2283E-05		V1b7	0.103	0.00034584	
K3a5	0.0652	0		K1b1	0.068	0		V1b9	0.1096	0.00083149	
K3a9	0.0726	0		K1b5	0.0704	3.2283E-05		V1b10	0.0952	-0.0002281	
K3a6	0.0679	0		K1b7	0.0769	0.00045196		V1b3	0.1168	0.0013613	
V2b6	0.34060001	0.01747805		K1b4	0.0743	0.00028409		K1a7	0.1221	0.00175129	
V2b9	0.0987	0.0018595		K1a2	0.0717	0.00011622		K1a9	0.1073	0.00066225	
V2b1	0.17640001	0.00687629		K1a1	0.0704	3.2283E-05		K1a1	0.1063	0.00058867	
V2b5	0.142	0.00465522		K1a8	0.0748	0.00031637		K1a6	0.0981	-1.472E-05	
V2b2	0.1093	0.00254391		K1a4	0.0714	9.6849E-05		K1a3	0.1027	0.00032377	
K3b4	0.0689	0		K1a5	0.0695	0		K1b2	0.1045	0.00045622	
K3b8	0.0668	0		V2a3	0.1191	0.00317665		K1b8	0.1138	0.00114054	
K3b9	0.0695	0		V2a9	0.1514	0.00526214		K1b2	0.1026	0.00031641	
K3b2	0.0695	0		V2a4	0.30109999	0.01492769		K1b10	0.1025	0.00030905	
K3b1	0.0694	0		V2a2	0.0987	0.0018595		K1b3	0.1009	0.00019132	
V2a6	0.45820001	0.02507102		V2a6	0.3443	0.001771694		V2a5	0.0835	-0.001089	
V2a3	0.0989	0.00187242		Standard	0.7744	0.04548683		V2a4	0.0745	-0.0017513	
V2a9	0.1146	0.00288611		Blank	0.0699	0		V2a7	0.0864	-0.0008756	
V2a4	0.17919999	0.00705708		<i>T. viride</i>	2.54839993	0.16002711		v2a8	0.0939	-0.0003238	
								V2a1	0.0959	-0.0001766	
								V2b7	0.0974	-6.623E-05	
								V2b8	0.0862	-0.0008904	

Beim Boxplot der Glucosaminidase-Aktivität nach zwei Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 47) bei den Varianten V1a, V1b, K1b, K2 normalverteilt aus. Die Daten von V2a und V2b sehen mit Ausnahme von einem Ausreißer nach oben normalverteilt aus (Abbildung 86). Die restlichen Varianten sind aufgrund von den tiefen Werten schlecht visuell zu beurteilen. Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei den Varianten K3a und V2a eine Abweichung von der Normalverteilung (Tabelle 48). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,34} = 1.484$, $p = 0.2$).

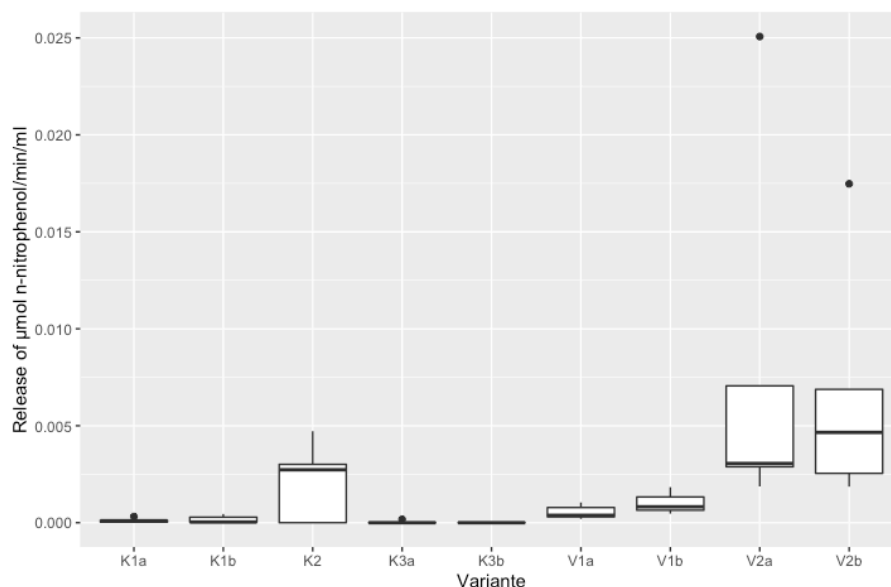


Tabelle 48: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach zwei Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.277	0.872
K1b	0.932	0.613
K2	0.876	0.292
K3a	0.899	0.406
K3b	0.703	<0.05
V1a	0.902	0.420
V1b	0.928	0.483
V2a	0.709	<0.05
V2b	0.810	0.098

Abbildung 86: Boxplot der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach zwei Wochen

Beim Boxplot der Glucosaminidase-Aktivität nach fünf Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 47) bei K1b und K1a nicht normalverteilt aus (Abbildung 87). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei der Variante K1b eine schwache Abweichung von der Normalverteilung (Tabelle 49). Der

Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,36} = 1.725$, $p = 0.126$).

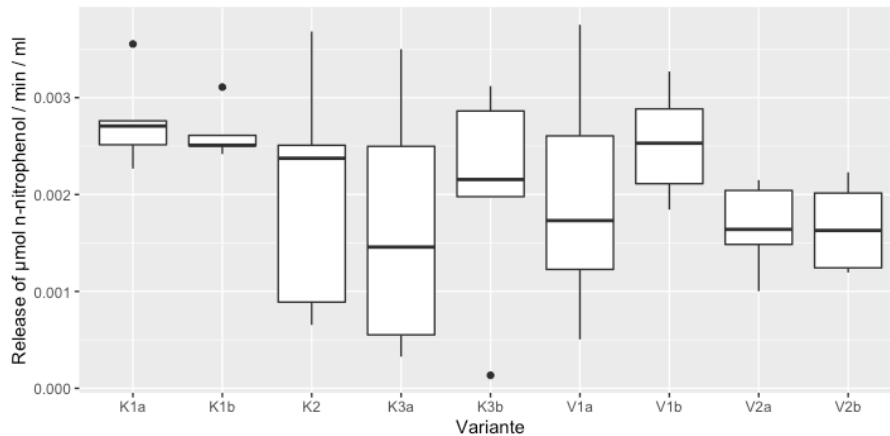


Tabelle 49: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach fünf Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.893	0.374
K1b	0.771	< 0.05
K2	0.921	0.537
K3a	0.932	0.611
K3b	0.88	0.308
V1a	0.98	0.932
V1b	0.976	0.911
V2a	0.947	0.719
V2b	0.908	0.454

Abbildung 87: Boxplot der β -N-Acetyl-Glucosaminidase-Aktivität nach fünf Wochen

Chitinase-Aktivität gemessen mit Dinitrosalicylidsäure

Pflanzenchitinase

Tabelle 50: Rohdaten der Pflanzenchitinase-Messung mit DNSA nach drei und vier Wochen

Nach 3 Wochen								Nach 4 Wochen							
Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität
V1a2	0.929	1.255	1.09	K1b9	0.607	1.255	2.04	K3b7	0.765	1.094	0.73	K1a9	0.89	1.293	0.88
V1a9	0.544	0.92	1.24	K27	0.952	0.72	0.13	K3b4	0.795	0.951	0.39	K1a1	1.623	1.848	0.53
V1a1	0.748	1.081	1.11	K25	1.018	1.714	2.19	K3b2	0.726	1.093	0.81	K1a7	1.148	1.345	0.47
V1a8	0.873	1.035	0.61	K22	0.936	1.585	2.05	K3b6	0.606	0.965	0.79	K1a6	1.122	1.899	1.62
V1a10	0.515	1.073	1.78	K26	0.483	0.922	1.43	K3b5	0.91	0.886	0.09	K1a3	0.83	1.676	1.75
V1b1	0.574	0.721	0.56	K21	0.601	1.001	1.31	K3a8	0.432	0.84	0.89	V1b4	0.718	1.053	0.75
V1b6	0.814	1.333	1.66	K3a2	0.639	0.848	0.75	K3a7	1.153	1.295	0.37	V1b1	1.265	1.638	0.82
V1b10	0.994	1.706	2.23	K3a4	0.725	1.128	1.32	K3a4	1.226	2.139	1.89	V1b3	0.818	1.528	1.49
V1b2	0.97	1.16	0.69	K3a5	0.548	0.802	0.88	K3a5	0.543	1.086	1.16	V1b6	0.476	0.747	0.62
V1b7	0.572	1.001	1.40	K3a8	0.401	0.742	1.14	K3a2	1.115	1.7	1.24	V1a10	0.748	1.081	0.74
K1a10	0.336	0.609	0.94	K3a7	0.57	0.963	1.29	K21	0.845	1.194	0.77	V1a7	0.962	1.525	1.20
K1a1	0.451	0.506	0.29	K3b7	NA	1.061	NA	K210	0.987	2.085	2.25	V1a5	0.986	1.036	0.19
K1a2	0.865	1.059	0.70	K3b1	0.207	0.416	0.75	K29	1.05	1.697	1.36	V1a6	1.174	1.341	0.42
K1a5	0.379	0.47	0.40	K3b8	0.717	1.042	1.09	K22	1.094	1.536	0.96	V1a4	1.362	1.561	0.48
K1a8	0.533	0.67	0.53	K3b5	0.621	0.859	0.83	K23	1.248	1.147	0.09	Blank1	0.111	0.073	NA
K1b1	0.739	1.063	1.09	K3b3	0.508	0.913	1.33	K1b2	1.219	1.338	0.32	Blank2	0.1	0.073	NA
K1b7	0.736	0.919	0.67	Blank1	-0.017	0.009	NA	K1b7	0.804	NA	NA	T.viride	0.07	0.162	NA
K1b5	0.64	0.86	0.78	Blank2	-0.015	0.017	NA	K1b1	0.94	1.117	0.44	T.viride	0	0.197	NA
K1b2	0.903	1.178	0.94					K1b8	1.072	1.109	0.16				

Bei der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach drei Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 50) bei allen Varianten normalverteilt aus (Abbildung 88). Der Shapiro-Wilk-Test zeigte bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 51). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,27} = 1.085$, $p = 0.396$).

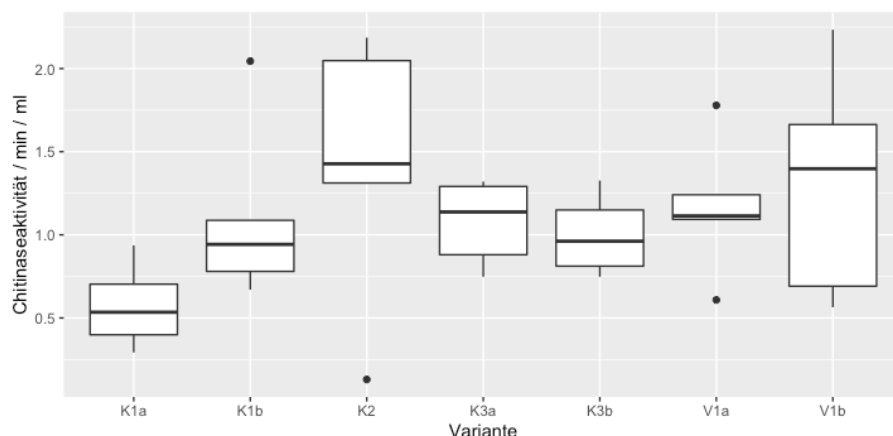


Tabelle 51: W- und P-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach drei

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.969	0.868
K1b	0.81	0.097
K2	0.898	0.397
K3a	0.90	0.41
K3b	0.941	0.662
V1a	0.945	0.705
V1b	0.939	0.657

Wochen

Abbildung 88: Boxplot der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach drei Wochen

Bei der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach vier Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 50) bei allen Varianten normalverteilt aus (Abbildung 89). Der Shapiro-Wilk-Test zeigte bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 52). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,25} = 0.869$, $p = 0.531$).

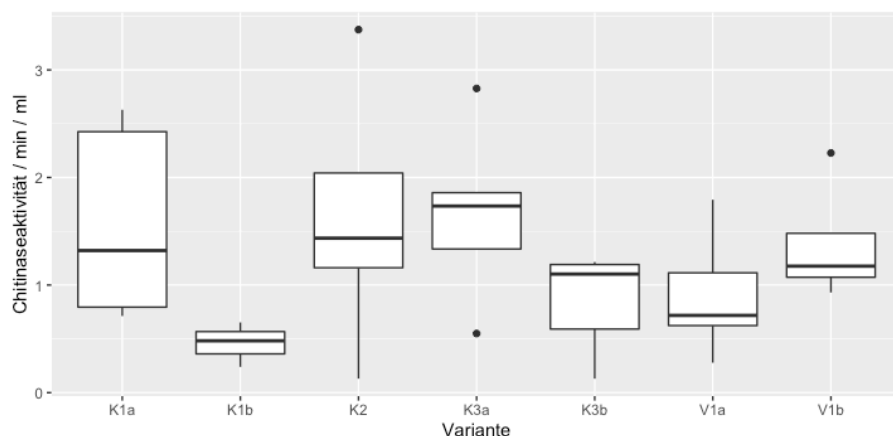


Tabelle 52: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach vier Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.855	0.211
K1b	0.990	0.811
K2	0.981	0.940
K3a	0.98	0.933
K3b	0.834	0.15
V1a	0.945	0.704
V1b	0.82	0.143

Abbildung 89: Boxplot der Chitinaseaktivität der Pflanzen nach 26 Tagen

Chitinaseaktivität im Substrat

Tabelle 53: Rohdaten der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Topfversuch gemessen mit DNSA

Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität
Mehl1	0.201	0.395	0.70320309
Mehl2	0.198	0.295	0.41660351
Mehl3	0.261	0.293	0.22455225
FfW1	0.041	0.02	0
FfW2	0.046	0.09	0.26000787
FfW3	0.046	0.008	0
S21	0.028	0.009	0
S22	0.034	0.009	0
S23	0.039	0.015	0
Blank1	0.201	0.221	Na
Blank2	0.194	0.223	Na
<i>T. viride</i>	0.02	0.584	Na

Bei den Anfangswerten sehen nur die Daten (Rohdaten in Tabelle 53) von der Variante mit Mehlwurm-Frass normalverteilt aus (Abbildung 90). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme

bestätigen (Tabelle 54). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{2,6} = 1.309$, $p = 0.337$).

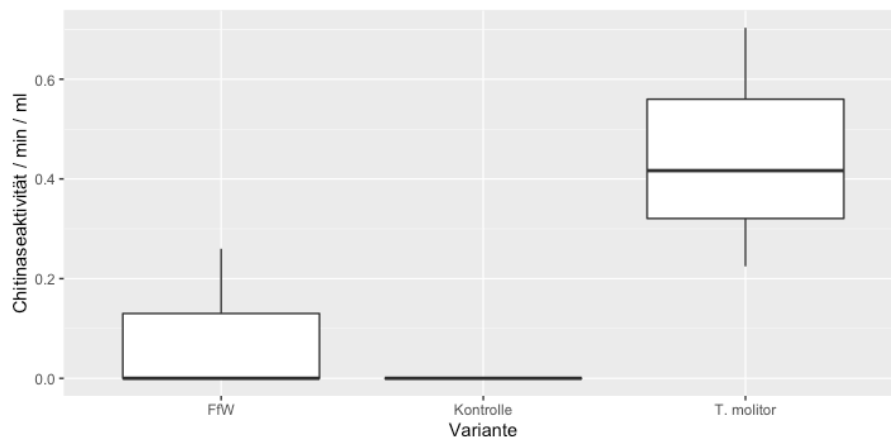


Tabelle 54: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA

Variante	W-Wert	p-Wert
FfW	0.75	< 0.001
Kontrolle	-	-
<i>T. molitor</i>	0.987	0.783

Abbildung 90: Boxplot der Anfangswerte der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA

Tabelle 55: Rohdaten der Chitinaseaktivität im Topfsubstrat nach zwei und fünf Wochen gemessen mit DNSA

Nach 2 Wochen								Nach 5 Wochen							
Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität	Probe	Abs. o. Chitin	Abs. m. Chitin	Aktivität
K1a2	0.051	0.072	0.07	K3b2	0.013	0.023	0.00	V1a10	0.028	0.02	0.00	V2a1	0.037	0.035	0.00
K1a4	0.064	0.076	0.06	V1a8	0.085	0.078	0.04	V1a4	0.054	0.046	0.00	V2b7	0.042	0.031	0.00
K1a10	0.074	0.053	0.00	V1a9	0.062	0.056	0.00	V1a8	0.017	0.008	0.00	V2b8	0.023	0.021	0.00
K1a5	0.084	0.055	0.00	V1a3	0.032	0.049	0.00	V1a1	0.021	0.016	0.00	V2b3	0.013	0.049	0.04
K1a8	0.088	0.06	0.00	V1a6	0.038	0.045	0.00	V1a7	0.027	0.023	0.00	V2b4	0.018	0.015	0.00
K1b7	0.048	0.059	0.02	V1a5	0.034	0.038	NA	V1b6	0.016	0.032	0.02	V2b1	0.019	0.023	0.00
K1b1	0.063	0.067	0.00	V1b5	0.043	0.054	0.01	V1b7	0.036	0.038	0.00	K3a2	0.001	0.004	0.00
K1b5	0.076	0.056	0.00	V1b8	0.033	0.044	0.10	V1b9	0.015	0.009	0.00	K3a8	0.011	0.006	0.00
K1b	0.065	0.05	0.04	V1b1	0.033	0.072	0.03	V1b10	0.01	0.025	0.02	K3a4	0.023	0.019	0.00
K1b4	0.078	0.083	0.00	V1b2	0.035	0.046	0.01	V1b3	0.02	0.011	0.00	K3a6	0.017	0.021	0.00
K21	0.074	0.08	0.00	V1b4	0.016	0.023	0.00	K1a7	0.012	0.016	0.00	K3b5	0.045	0.032	0.00
K22	0.049	0.067	0.00	V2a6	0.037	0.04	0.06	K1a9	0.016	0.01	0.00	K3b3	0.021	0.005	0.00
K29	0.061	0.058	0.00	V2a3	0.032	0.04	0.10	K1a1	0.012	0.008	0.00	K3b6	0.017	0.01	0.00
K26	0.057	0.061	0.00	V2a2	0.023	0.041	0.15	K1a6	0.013	0.01	0.00	K3b1	0.064	0.009	0.00
K210	0.05	0.04	0.00	V2a4	0.015	0.024	0.09	K1a3	0.017	0.013	0.00	K3b7	0.015	0.013	0.00
K3a5	0.041	0.087	0.02	V2a9	0.026	0.035	0.12	K1b2	0.012	0.028	0.02	K23	0.055	0.01	0.00
K3a1	0.046	0.073	0.01	V2b9	0.025	0.041	0.07	K1b8	0.007	0.005	0.00	K27	0.017	0.01	0.00
K3a9	0.045	0.071	0.00	V2b10	0.032	0.047	0.11	K1b2	0.015	0.016	0.00	K24	0.029	0.05	0.02
K3a4	0.05	0.066	0.00	V2b5	0.028	0.037	0.10	K1b10	0.009	0.007	0.00	K28	0.035	0.038	0.00
K3a6	0.046	0.059	0.00	V2b6	0.031	0.068	0.08	K1b3	NA	0.014	0.00	K25	0.013	0.011	0.00
K3b4	0.048	0.078	0.00	V2b2	0.034	0.034	0.01	V2a5	0.028	0.025	0.00	Blank1	0.005	0.011	NA
K3b8	0.045	0.051	0.03	Blank1	0.193	0.237	NA	V2a4	0.007	0.021	0.02	Blank2	0.016	0.013	NA
K3b9	0.036	0.076	0.00	Blank 2	0.215	0.227	NA	V2a7	0.02	0.014	0.00	<i>T. viride</i>	0.001	0.265	0.29
K3b10	0.028	0.043	0.01	<i>T. viride</i>	0.02	0.571	NA	V2a8	0.044	0.046	0.00				

Bei der Chitinaseaktivität im Substrat nach zwei Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 55) nur bei V2a normalverteilt aus (Abbildung 91). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei den Varianten K1a, K1b, K2, K3b und V1a eine Abweichung von der Normalverteilung (Tabelle 56). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,35} = 0.942$, $p = 0.496$).

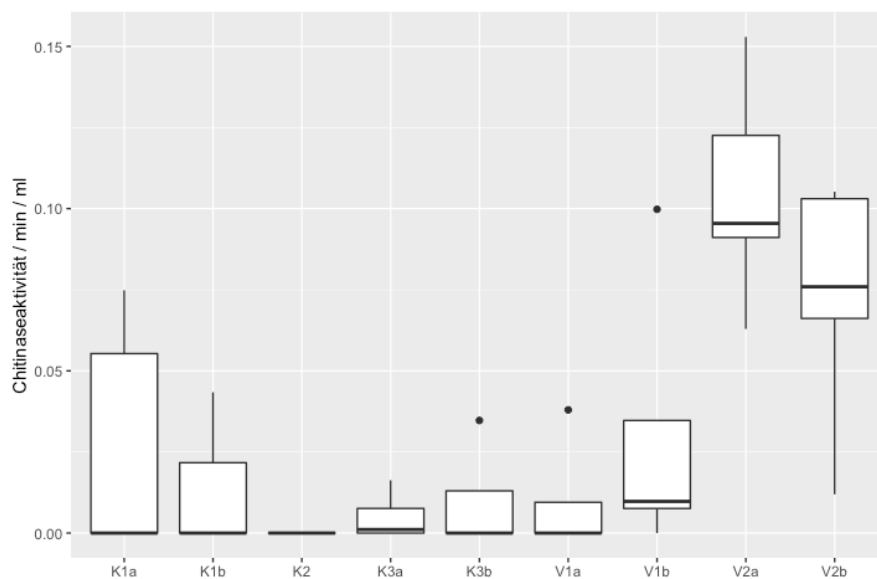


Tabelle 56: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach zwei Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.755	< 0.05
K1b	0.771	< 0.05
K2	-	-
K3a	0.803	0.086
K3b	0.748	< 0.05
V1a	0.63	< 0.01
V1b	0.792	0.07
V2a	0.98	0.907
V2b	0.878	0.302

Abbildung 91: Boxplot der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach zwei Wochen

Bei der Chitinaseaktivität im Substrat nach fünf Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 55) bei allen Varianten nicht normalverteilt aus (Abbildung 92). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei der Variante V1b eine Normalverteilung (Tabelle 57). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,35} = 0.936$, $p = 0.5$).

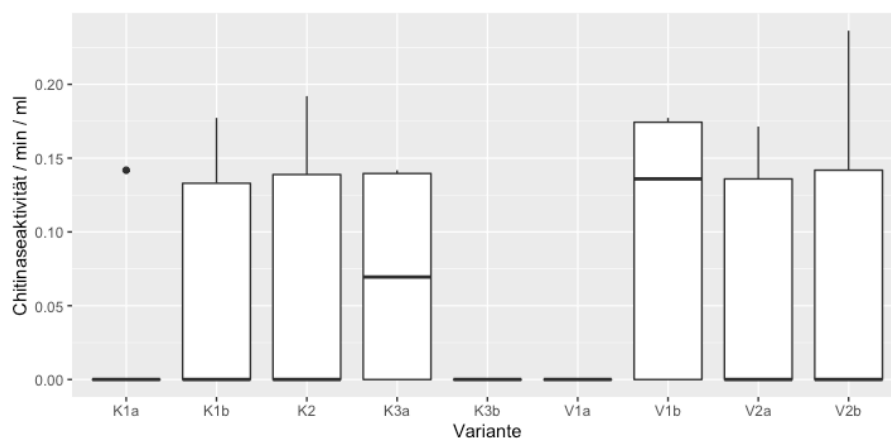


Tabelle 57: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach fünf Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.552	< 0.001
K1b	0.753	< 0.05
K2	0.758	< 0.05
K3a	0.738	< 0.05
K3b	-	-
V1a	-	-
V1b	0.781	0.056
V2a	0.743	< 0.05
V2b	0.773	< 0.05

Abbildung 92: Boxplot der Chitinaseaktivität im Substrat gemessen mit DNSA nach 5 Wochen

Kolonienanzahl der chitinolytischen Mikroorganismen

Tabelle 58: Rohdaten der Kolonienanzahl im Topfsubstrat nach zwei, fünf und zehn Wochen

Nach 2 Wochen				Nach 5 Wochen				Nach 10 Wochen			
Probe	CFU		Probe	CFU		Probe	CFU		Probe	CFU	
K1a4	160000		K21	40000		V1a10	110000		K3a3	50000	
K1a10	100000		K29	20000		V1a4	110000		K3a9	50000	
K1a2	120000		K3b9	50000		V1a8	50000		K3a6	20000	
K1a5	NA		K3b10	NA		V1a1	10000		K3a7	10000	
K1a8	250000		K3b8	60000		V1a7	10000		K3a4	40000	
V2b6	300000		K3b2	650000		V1b6	50000		V1b9	180000	
V2b10	4400000		K3b4	NA		V1b7	NA		V1b7	150000	
V2b2	3000000		K1b4	200000		V1b9	20000		V1b4	60000	
V2b5	2400000		K1b	10000		V1b10	20000		V1b10	180000	
V2b9	1800000		K1b7	170000		V1b3	30000		V1b1	70000	
V2a4	920000		K1b1	60000		K1a7	40000		K1b7	240000	
V2a9	6200000		K1b5	150000		K1a9	140000		K1b4	40000	
V2a3	2700000		K3a9	60000		K1a1	60000		K1b9	120000	
V2a6	30000000		K3a6	70000		K1a6	30000		K1b10	90000	
V2a2	1500000		K3a1	70000		K1a3	60000		K1b6	100000	
V1b5	30000		K3a5	110000		K1b2	30000		K3b4	20000	
V1b1	110000		K3a4	90000		K1b8	20000		K3b8	40000	
V1b8	60000		V1a9	2200000		K1b2	50000		K3b7	50000	
V1b2	120000		V1a3	40000		K1b10	30000		K3b9	10000	
V1b4	NA		V1a8	150000		K1b3	20000		K3b3	60000	
K210	40000		V1a5	270000		V2a5	700000		V2a5	570000	
K26	60000		V1a6	50000		V2a4	10000		V2a2	280000	
K22	20000					V2a7	420000		V2a10	170000	

Beim Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zwei Wochen weichen die Daten (Rohdaten in Tabelle 63) stark von der Geraden ab (Abbildung 93). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei den Varianten K3b, V1a und V2a eine Abweichung der Normalverteilung (Tabelle 59). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,32} = 1.408$, $p = 0.231$).

Tabelle 59: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zwei Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.985	0.960
K1b	0.917	0.509
K2	0.881	0.314
K3a	0.905	0.44
K3b	0.637	0.002
V1a	0.639	0.002
V1b	0.912	0.492
V2a	0.689	0.007
V2b	0.996	0.995

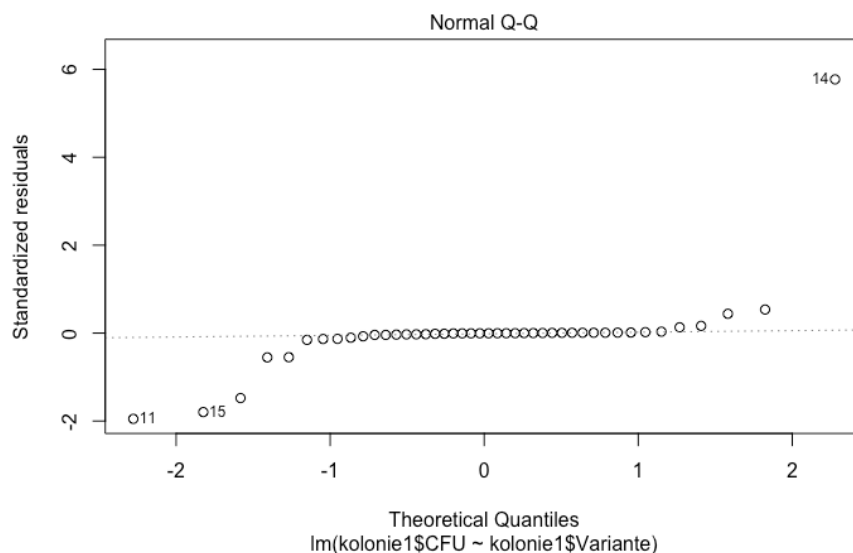


Abbildung 93: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zwei Wochen

Beim Q-Q Plot der logarithmustransformierten Daten (Rohdaten in Tabelle 63) liegen sie besser auf der Geraden (Abbildung 94). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 60). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,32} = 0.844$, $p = 0.572$).

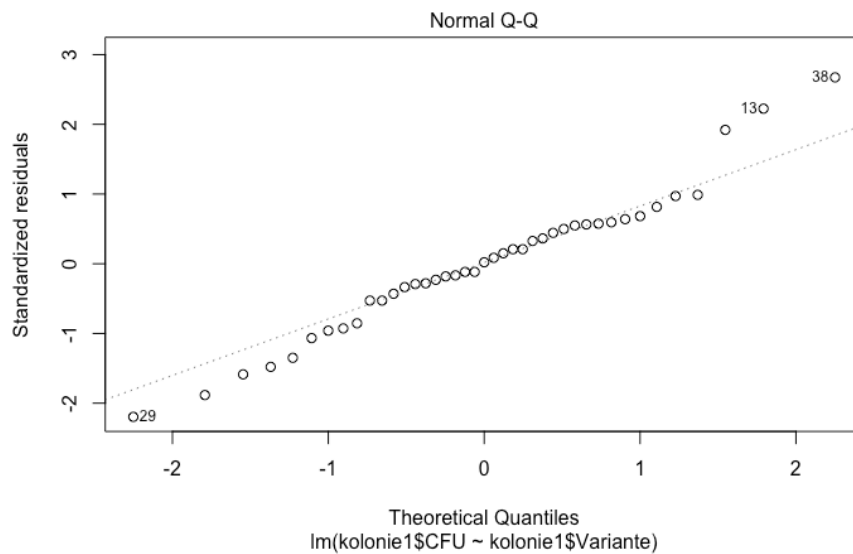


Tabelle 60: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach zwei Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.96	0.775
K1b	0.81	0.097
K2	0.863	0.241
K3a	0.930	0.6
K3b	0.803	0.122
V1a	0.91	0.464
V1b	0.898	0.42
V2a	0.943	0.685
V2b	0.837	0.157

Abbildung 94: Q-Q Plot der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach zwei Wochen

Beim Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach fünf Wochen weichen die Daten (Rohdaten in Tabelle 63) stark von der Geraden ab (Abbildung 93). Der Shapiro-Wilk-Test zeigte trotzdem bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 59). Der Vergleich der Varianzen ergab keine Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,35} = 4.92$, $p < 0.001$).

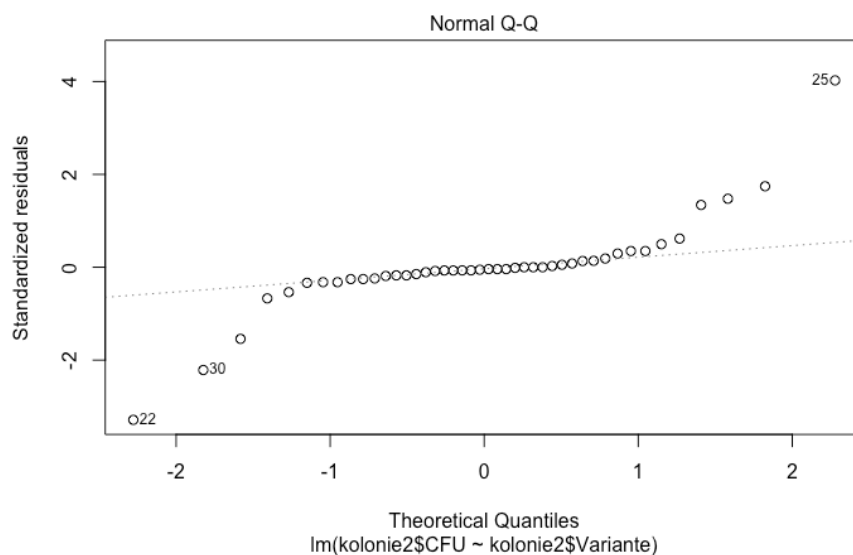


Tabelle 61: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen

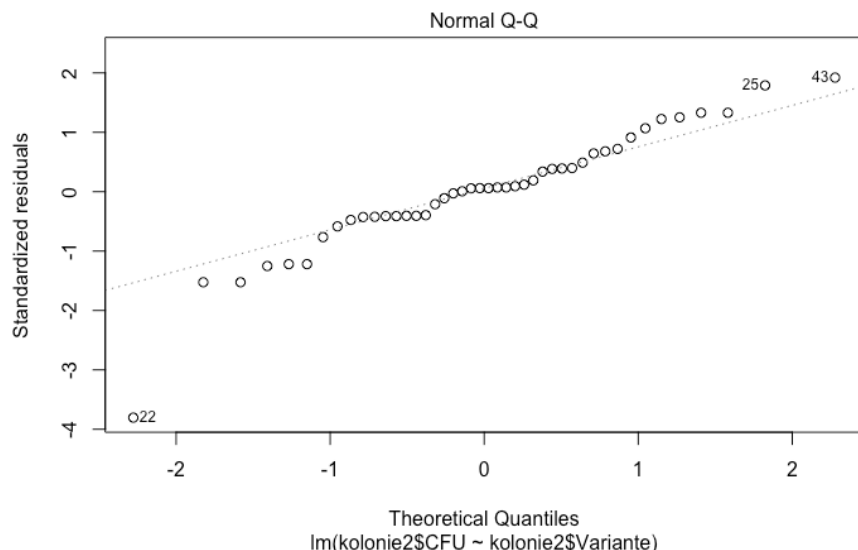
Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.871	0.272
K1b	0.89	0.356
K2	0.867	0.255
K3a	0.867	0.254
K3b	0.952	0.754
V1a	0.942	0.679
V1b	0.814	0.105
V2a	0.884	0.329
V2b	0.923	0.547

Abbildung 95: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach fünf Wochen

Beim Q-Q Plot der logarithmustransformierten Daten liegen sie besser auf der Geraden. Nur der Wert 22 weicht von der Geraden ab (Abbildung 96). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei allen Varianten

eine Normalverteilung (Tabelle 62). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,35} = 1.403$, $p = 0.23$).

Tabelle 62: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach fünf Wochen

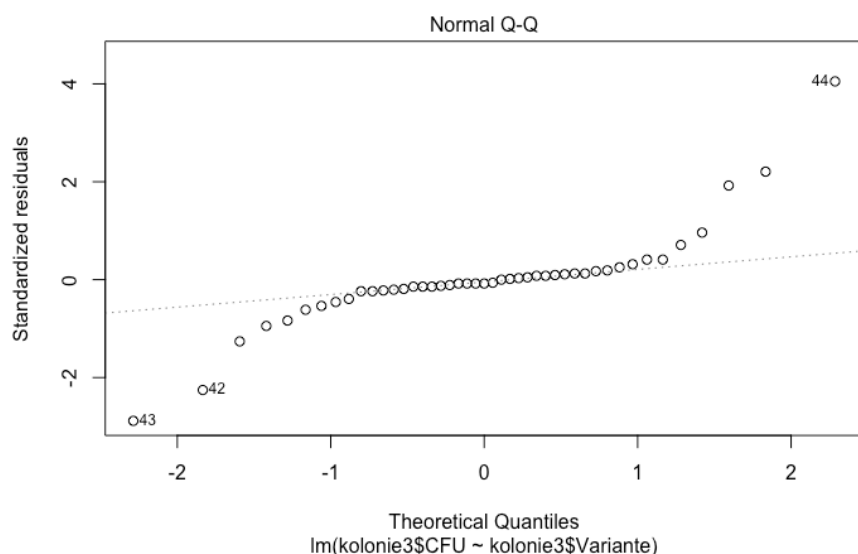


Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.272	0.61
K1b	0.874	0.283
K2	0.885	0.331
K3a	0.997	0.998
K3b	0.998	0.999
V1a	0.802	0.084
V1b	0.857	0.25
V2a	0.81	0.097
V2b	0.917	0.512

Abbildung 96: Q-Q Plot der Log10-transformierten Daten der Kolonienanzahl nach fünf Wochen

Beim Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zehn Wochen weichen die Daten stark von der Geraden ab (Abbildung 93). Der Shapiro-Wilk-Test zeigte trotzdem bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 59). Der Vergleich der Varianzen ergab keine Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,36} = 4.68$, $p < 0.001$).

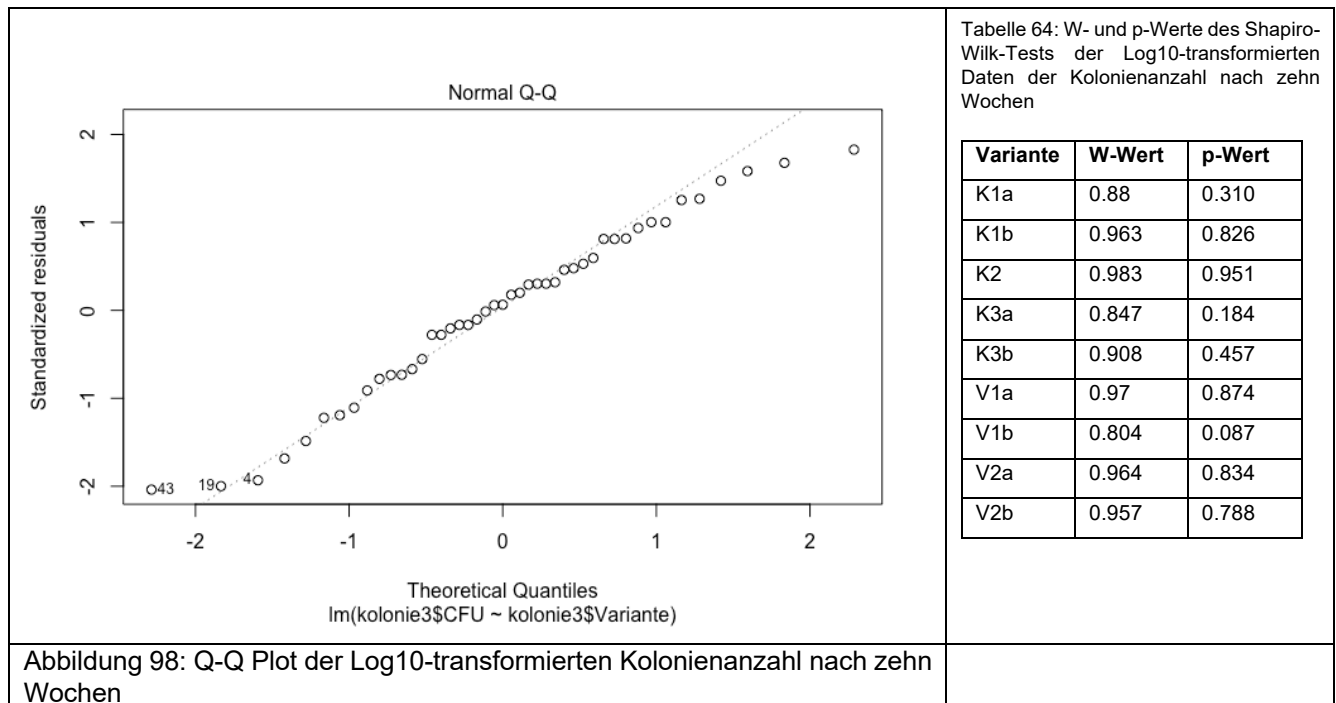
Tabelle 63: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Kolonienanzahl nach zehn Wochen



Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.88	0.310
K1b	0.963	0.826
K2	0.983	0.951
K3a	0.847	0.184
K3b	0.908	0.457
V1a	0.97	0.874
V1b	0.804	0.087
V2a	0.964	0.834
V2b	0.957	0.788

Abbildung 97: Q-Q Plot der Kolonienanzahl nach zehn Wochen

Beim Q-Q Plot der logarithmus-transformierten Daten liegen sie besser auf der Geraden mit drei grösseren Abweichungen von der Geraden (Abbildung 96). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 62). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,36} = 0.7911$, $p = 0.614$).



Wachstumsparameter

Blattanzahl

Tabelle 65: Rohdaten der Blattanzahl nach vier, sechs und acht Wochen

Nach 4 Wochen				Nach 6 Wochen				Nach 8 Wochen			
Pflanze	Anzahl	Pflanze	Anzahl	Pflanze	Anzahl	Pflanze	Anzahl	Pflanze	Anzahl	Pflanze	Anzahl
V1a1	19	K1a8	29	V1a1	23	K1a8	42	V1a1	25	K1b6	23
V1a2	25	K1a10	37	V1a2	28	K1a9	51	V1a3	29	K1b8	26
V1a3	22	K1b1	19	V1a3	30	K1a10	50	V1a5	37	K1b9	34
V1a5	19	K1b2	29	V1a6	33	K1b1	27	V1a7	32	K1b10	39
V1a8	18	K1b3	26	V1a7	31	K1b2	40	V1a8	34	K2.1	45
V1a10	18	K1b4	20	V1a8	32	K1b4	25	V1a9	28	K2.2	60
V1b1	16	K1b7	26	V1b1	26	K1b5	31	V1b1	27	K2.3	46
V1b2	21	K1b8	18	V1b2	30	K1b7	37	V1b2	34	K2.4	49
V1b3	25	K2.1	25	V1b3	30	K1b10	36	V1b5	40	K2.6	70
V1b6	19	K2.2	36	V1b7	28	K2.1	42	V1b6	31	K2.8	48
V1b8	19	K2.3	28	V1b9	24	K2.2	47	V1b7	29	K3a2	43
V1b10	18	K2.7	33	V1b10	28	K2.4	45	V1b8	31	K3a3	50
V2a2	12	K2.8	32	V2a2	14	K2.5	49	V2a7	23	K3a5	34
V2a4	16	K2.9	38	V2a3	7	K2.6	50	V2b5	27	K3a6	34
V2a6	13	K3a1	25	V2a5	19	K2.7	49	K1a2	62	K3a8	37
V2a8	12	K3a2	20	V2a6	19	K2.8	42	K1a5	39	K3a10	27
V2a9	15	K3a3	30	V2a7	19	K3a1	37	K1a6	56	K3b2	28
V2a10	16	K3a6	20	V2a8	13	K3a4	38	K1a7	44	K3b4	27
V2b3	11	K3a7	20	V2b1	7	K3a5	35	K1a8	44	K3b6	33
V2b4	10	K3a10	31	V2b2	12	K3a6	34	K1a9	52	K3b8	27
V2b5	12	K3b2	14	V2b3	13	K3a7	28	K1b1	28	K3b9	24
V2b6	11	K3b4	20	V2b4	11	K3a8	35	K1b4	26		
V2b8	10	K3b5	16	V2b6	12	K3b1	31				
V2b10	15	K3b7	15	V2b10	20	K3b2	23				
K1a2	33	K3b8	17	K1a1	42	K3b3	20				
K1a4	32	K3b9	18	K1a2	52	K3b7	19				
K1a5	33			K1a3	44	K3b9	25				
				K1a5	40	K3b10	23				

Bei der Blattanzahl nach vier Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 65) normalverteilt aus (Abbildung 99). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 66). Der Vergleich

der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,44} = 2.103$, $P = 0.056$).

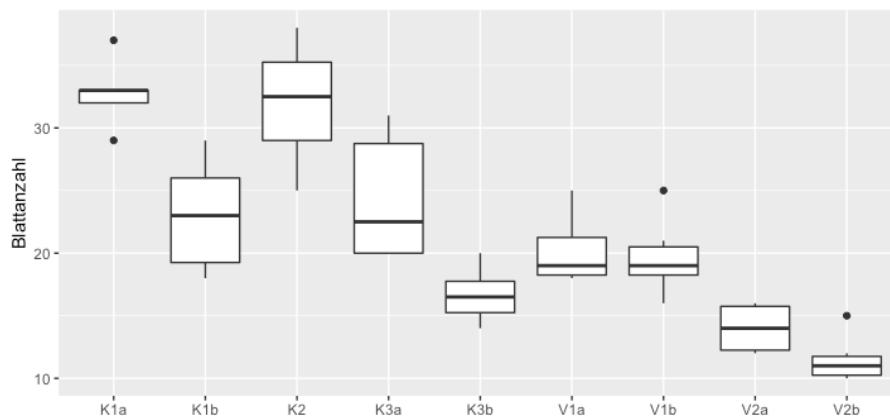


Tabelle 66: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach vier Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.942	0.68
K1b	0.880	0.27
K2	0.921	0.537
K3a	0.799	0.057
K3b	0.983	0.964
V1a	0.814	0.079
V1b	0.928	0.567
V2a	0.833	0.113
V2b	0.815	0.079

Abbildung 99: Boxplot der Blattanzahl nach vier Wochen

Bei der Blattanzahl nach sechs Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 65) normalverteilt aus (Abbildung 100). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 67). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{8,47} = 1.018$, $P = 0.436$).

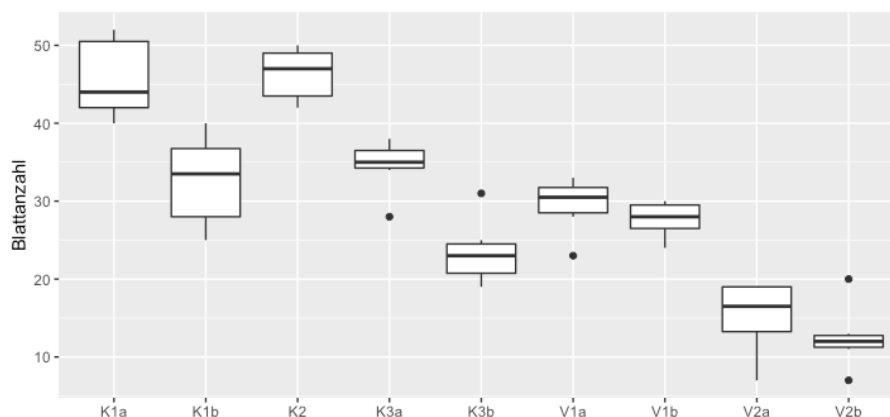


Tabelle 67: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach sechs Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.863	0.161
K1b	0.937	0.638
K2	0.873	0.196
K3a	0.86	0.189
K3b	0.909	0.429
V1a	0.891	0.325
V1b	0.908	0.421
V2a	0.829	0.105
V2b	0.889	0.313

Abbildung 100: Boxplot der Blattanzahl nach sechs Wochen

Bei der Blattanzahl nach acht Wochen sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 65) normalverteilt aus (Abbildung 101). Der Shapiro-Wilk-Test konnte diese Annahme bestätigen (Tabelle 68). Der Vergleich der Varianzen ergab Homoskedastizität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,34} = 0.959$, $P = 0.468$).

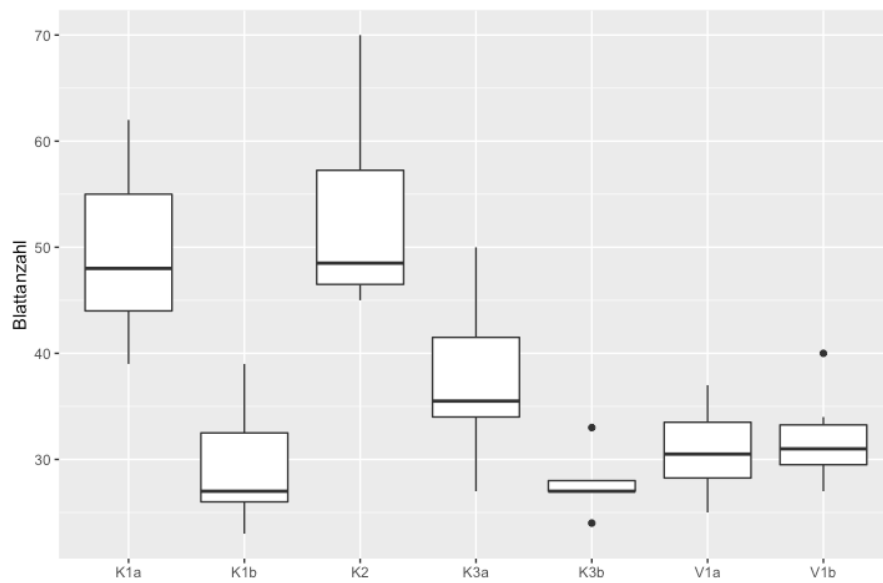


Tabelle 68: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Blattanzahl nach acht Wochen

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.948	0.721
K1b	0.901	0.379
K2	0.821	0.09
K3a	0.961	0.83
K3b	0.905	0.437
V1a	0.985	0.973
V1b	0.916	0.48

Abbildung 101: Boxplot der Blattanzahl nach acht Wochen

Pflanzenmasse

Tabelle 69: Rohdaten der Wurzel- und Sprossmasse

Frischmasse						Trockenmasse					
Pflanze	Wurzel	Spross		Pflanze	Wurzel	Spross		Pflanze	Wurzel	Spross	
V2b5	5.7	74.5		J26	33.8	104.9		V2b5	0.3	4.7	
V1b8	41.1	40.4		V2a7	3.2	52.7		V1b8	6.7	7.5	
V1b6	62.5	53.6		K1a5	71.6	110.8		V1b6	9.6	9.2	
V1b5	58.5	81.9		K1a10	70.4	114		V1b5	14.9	15.7	
K3b5	24	35.3		K1a1	30.3	119.3		K3b5	3	5.2	
K3b2	42.7	40.6		V1a5	51.2	57		K3b2	5.3	4.6	
K3b10	59.8	37.4		V1a7	66.3	61.5		K3b10	18	3.6	
K1b5	28.8	56.6		V1a3	49.2	53.7		K1b5	4.3	6.6	
K1b2	60.5	110.4		K3a2	62	76.9		K1b2	9.7	14.8	
K1b1	49.4	57.7		K3a10	58.7	101.9		K1b1	11.3	8.1	
K24	32.9	105.8		K3a3	93.4	76.7		K24	6.2	16.1	
K22	93	133						K22	10.5	23	

Bei der Frischmasse der Wurzeln sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 69) bei K1a, K2, K3a und V1a nicht normalverteilt aus (Abbildung 102). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei K1a und K2 eine Abweichung der Normalverteilung (Tabelle 71). Es bestand Varianzhomogenität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,14} = 0.198$, $p = 0.972$).

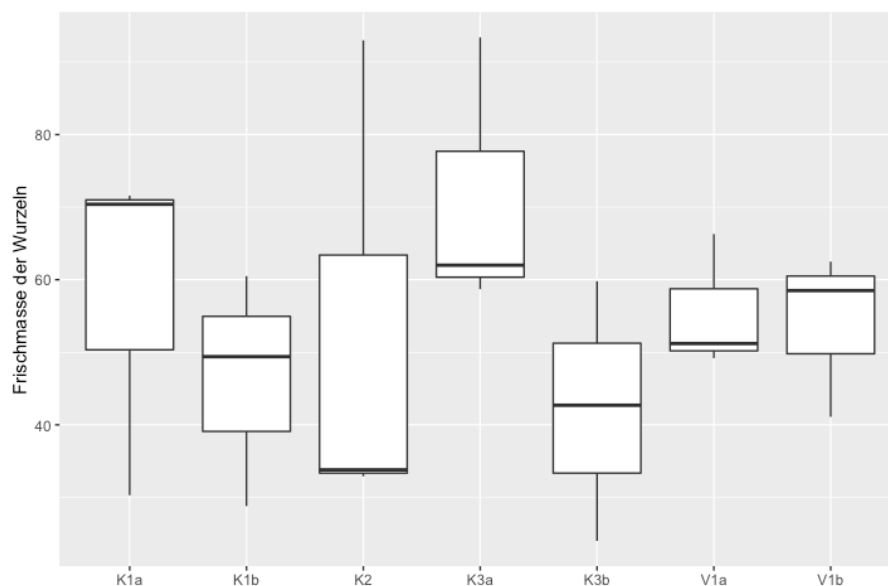


Tabelle 70: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Frischmasse der Wurzeln

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.772	< 0.05
K1b	0.971	0.673
K2	0.761	< 0.05
K3a	0.821	0.165
K3b	0.1	0.951
V1a	0.836	0.205
V1b	0.884	0.338

Abbildung 102: Boxplot der Frischmasse der Wurzeln

Bei der Frischmasse des Sprosses sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 69) bei K1b, K2 und K3a nicht normalverteilt aus (Abbildung 103). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei K1b und K3a eine Abweichung der Normalverteilung (Tabelle 70). Es bestand Varianzhomogenität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,14} = 0.512$, $p = 0.79$).

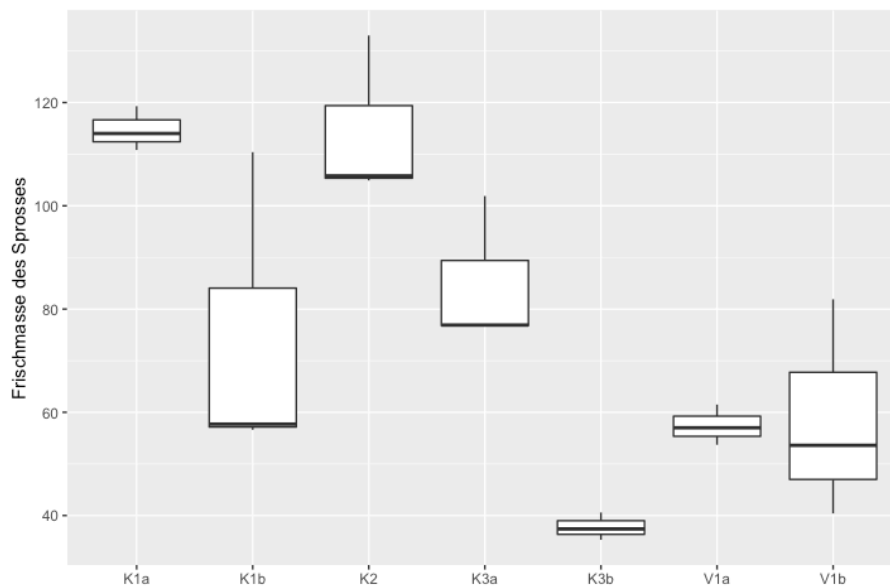


Tabelle 71: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Frischmasse des Sprosses

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.980	0.073
K1b	0.765	0.034
K2	0.774	0.054
K3a	0.756	0.013
K3b	0.986	0.772
V1a	0.992	0.831
V1b	0.958	0.605

Abbildung 103: Boxplot der Frischmasse des Sprosses

Trockenmasse

Bei der Trockenmasse der Wurzeln sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 69) grösstenteils normalverteilt aus (Abbildung 104). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 72). Es bestand Varianzhomogenität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,14} = 0.487$ $p = 0.808$).

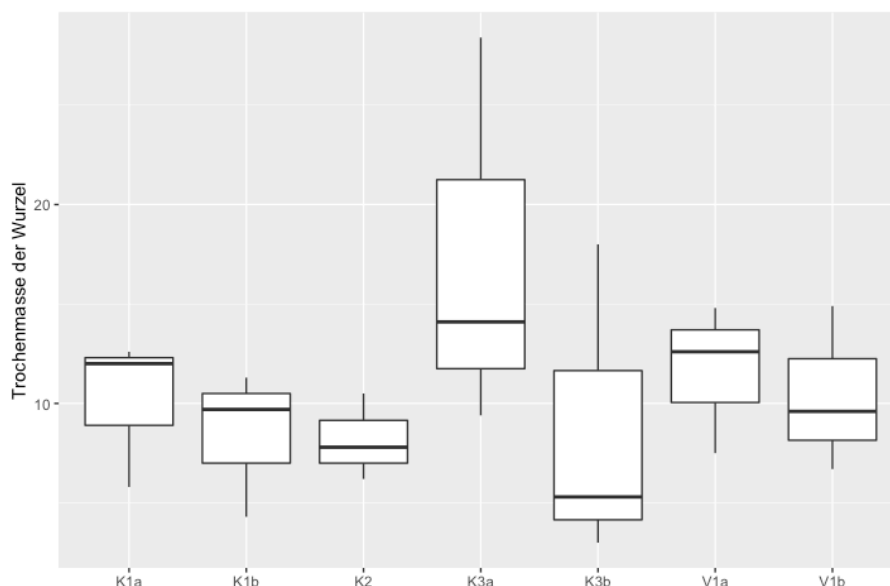


Tabelle 72: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Trockenmasse der Wurzeln

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.816	0.152
K1b	0.911	0.42
K2	0.979	0.72
K3a	0.922	0.458
K3b	0.862	0.273
V1a	0.950	0.57
V1b	0.972	0.680

Abbildung 104: Boxplot der Trockenmasse der Wurzeln

Bei der Trockenmasse des Sprosses sehen die Daten (Rohdaten in Tabelle 69) grösstenteils normalverteilt aus (Abbildung 105). Der Shapiro-Wilk-Test ergab bei allen Varianten eine Normalverteilung (Tabelle 73). Es bestand Varianzhomogenität zwischen den Varianten (Levene-Test, $F_{6,14} = 0.497$ $p = 0.801$).

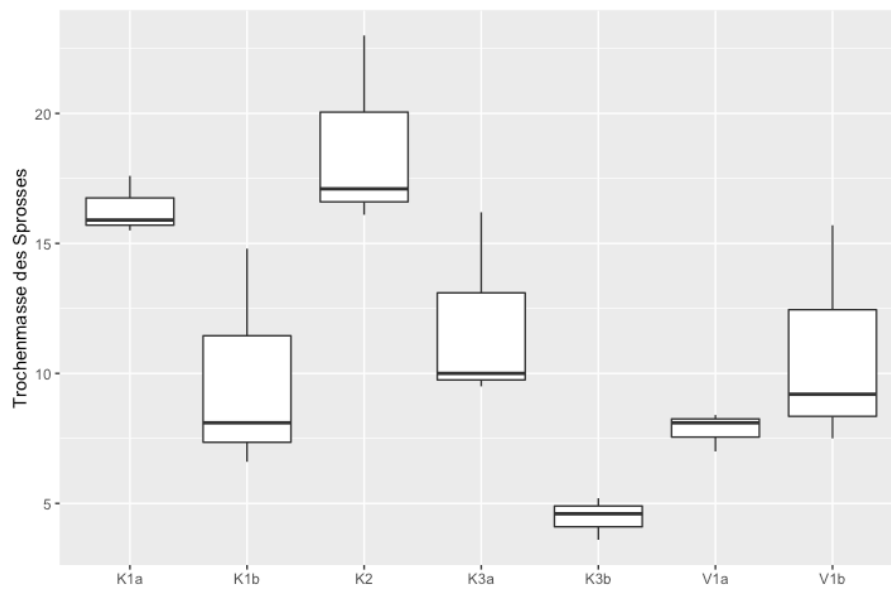


Tabelle 73: W- und p-Werte des Shapiro-Wilk-Tests der Trockenmasse des Sprosses

Variante	W-Wert	p-Wert
K1a	0.887	0.344
K1b	0.882	0.33
K2	0.856	0.257
K3a	0.806	0.128
K3b	0.986	0.726
V1a	0.902	0.391
V1b	0.897	0.378

Abbildung 105: Boxplot der Trockenmasse des Sprosses

Messung der Chitinaseaktivität

3,5-Dinitrosalicylsäure-Methode (DNS oder DNSA)

DNSA wird häufig verwendet, um den Gehalt von reduzierenden Zuckern in Lösungen zu bestimmen. Monomere von Zuckern können offenkettig oder in einer Ringstruktur vorkommen. Moleküle von Zuckern sind reduzierend, wenn sie eine Aldehydgruppe besitzen und eine offenkettige Struktur aufweisen (Abbildung 106).

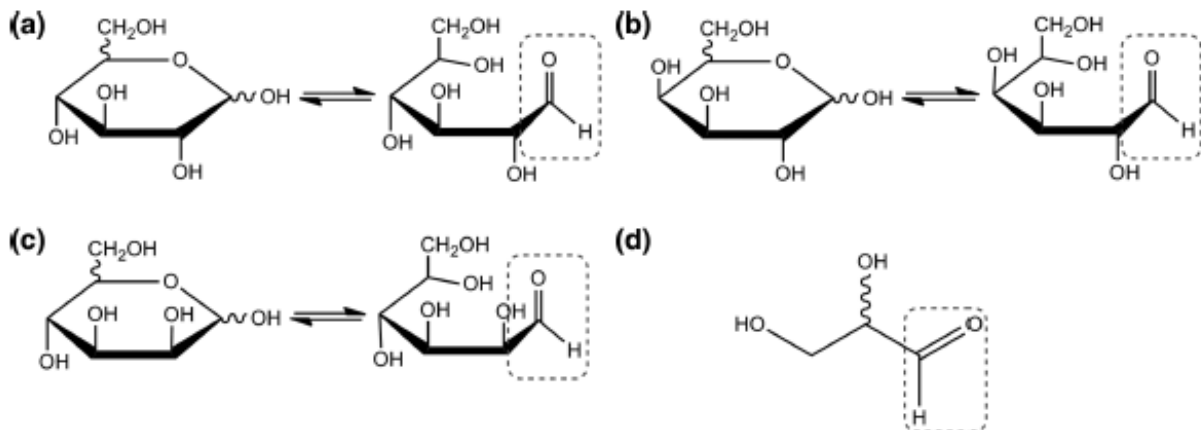


Abbildung 106: Monomere von reduzierenden Zuckern mit Aldehydgruppe (eingekreist); a) Glucose, b) Galactose, c) Mannose, d) Glycerinaldehyd (Gaspar, 2012)

Sind die Monomere zu Dimeren verbunden ist die Aldehydgruppe des einen Zuckers in der glycosidischen Bindung eingelagert, wodurch die reduzierende Eigenschaft von einem der Zucker nicht besteht (Abbildung 107). Bei der Hydrolyse des Dimers wird ein zweites reduzierendes Ende freigesetzt. Bei der Bestimmung der Konzentrationssteigerung von reduzierenden Zuckern kann somit die Aufspaltung der glycosidischen Bindungen durch Enzyme gemessen werden.

Bei der Reaktion mit 3,5-Dinitrosalicylsäure wird die Aldehydgruppe der reduzierenden Zuckerenden zu Carbonsäure oxidiert und die 3,5-Dinitrosalicylsäure zu 3-Amino-5-Nitrosalicylsäure reduziert (Saqib & Whitney, 2011).

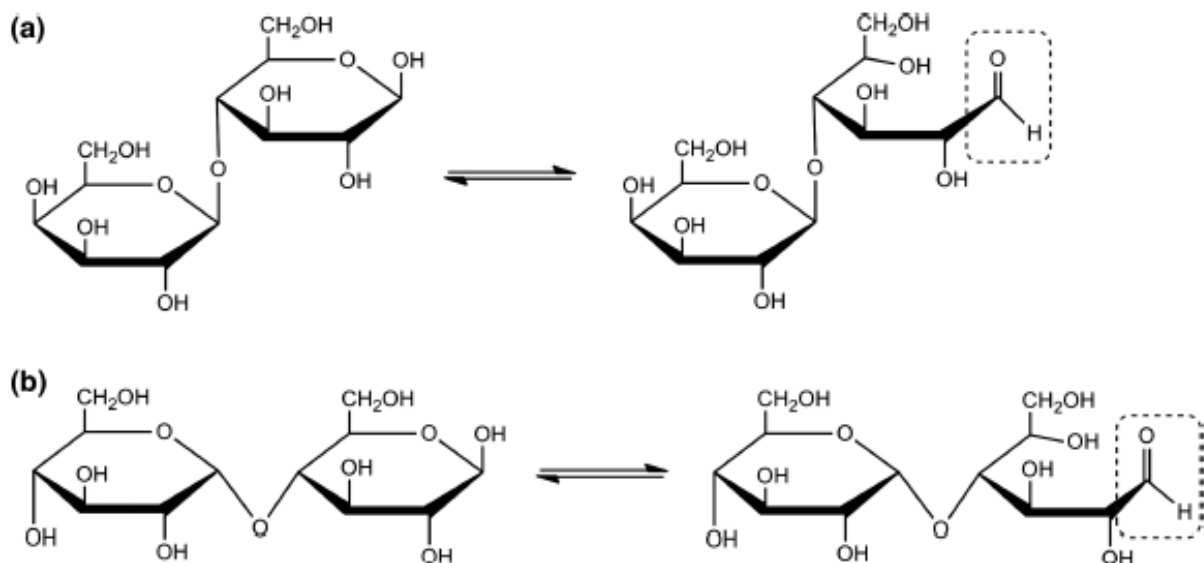


Abbildung 107: Chemische Struktur von Disacchariden in glycosidischer Bindung; a) Laktose, b) Maltose (Gaspar, 2012)

Die Reduzierung von DNSA oder Ferricyanid in Schales' Reagenz durch reduzierende Zuckerenden führt zu einer Farbänderung des Reagenzes, was spektromorphisch gemessen werden kann. Ein Nachteil dieser Methode ist die geringe Sensitivität bei tiefen Zuckerkonzentrationen (Ferrari et al., 2014).

Messung von Enzymaktivität in Bodenproben

Enzyme im Boden wirken entweder in den Zellen von Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren oder extrazellulär, was hauptsächlich für den Abbau von Makromolekülen verantwortlich ist. Die Messung von Enzymen im Boden beinhaltet normalerweise nicht die genaue Bestimmung der Konzentration des Enzyms, da die Extraktion und Quantifizierung eines bestimmten Proteins im Boden schwierig zu handhaben ist. Stattdessen wird die Aktivität einer Enzymreaktion zwischen Bodentypen oder Bodenproben untereinander verglichen. Meist wird das durch die Messung der Konzentrationssteigerung eines Produkts durch die Enzymaktivität, ausgelöst durch einen Katalysator (auch als Substrat bezeichnet), bewerkstelligt. Viele Faktoren können die Aktivität eines Enzyms während eines Enzym-Assays beeinflussen. Die Einstellung dieser Faktoren sollte so eingerichtet sein, dass die Aktivität proportional zur Enzymkonzentration ist. Die Konzentration des Katalysators und die Menge an verwendeten Bodenproben können einen Einfluss haben. Werden höhere Mengen an Boden über 1.5 g für das Assay verwendet, können Pufferschwierigkeiten und Partikeleffekte im Boden die Aktivität senken. Enzyme haben oftmals eine optimale Aktivität bei einem bestimmten pH-Wert und die Aktivität kann rasch absinken bei Differenzen zum optimalen Wert. Bei längeren Inkubationszeiten kann die Sensitivität gesteigert werden, da mehr des Substrates aufgespalten wird. Jedoch wird das Risiko von unerwünschten Nebenreaktionen

gesteigert. Um die Verdauung des Produkts (z.B. Glucose) durch Mikroorganismen während der Inkubationszeit zu verhindern, wird meist Toluol bei der Enzymextraktion hinzugefügt. Durch die Steigerung der Temperatur während der Inkubation wird ebenfalls die Sensitivität gesteigert. Ist die Temperatur zu hoch kann jedoch die Enzymaktivität deaktiviert werden. Die meisten Enzym-Assays werden bei 37 °C durchgeführt. Bodenproben sollten möglichst rasch nach der Probenahme verwendet werden. Um die Stabilität der Reagenzien zu prüfen, sollte eine Kontrollmessung der Reagenzien ohne Bodenproben durchgeführt werden. Für jede Probe muss ausserdem eine Kontrolle angefertigt werden, wobei das Substrat erst nach der Inkubation hinzugefügt wird, um bereits bestehende Produktkonzentrationen in der Probe abzuziehen (Dick, 2011). Rodriguez-Kabana et al. (1983) konnten einen optimalen pH-Wert zwischen 5.0 und 5.5 bei der Bestimmung von Chitinase in Bodenproben feststellen. Eine Chitinaseaktivität konnte bei Inkubationstemperaturen zwischen 0 und 50 °C festgestellt werden. Die Beziehungen der Temperaturhöhe und der Inkubationszeit zur Chitinaseaktivität waren positiv linear. Bei Konzentrationen des Katalysators zwischen 0 und 1.5% kolloidalen Chitins bestand ebenfalls Linearität, wobei höher Konzentrationen von 1.5% zu keiner Steigerung der Aktivität führte. Bei grösseren Bodenpartikeln ist die Chitinaseaktivität gesunken.

Anhang 2 - Aussaatsubstrat Floradur Block Bio



Floradur Block Bio



Rezeptur: 10334

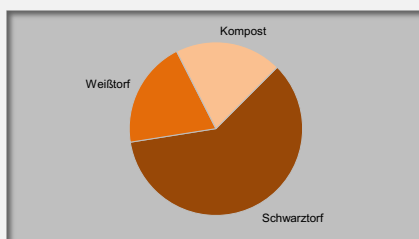
Anwendungsbereich:

Presstopfsubstrat für die Anzucht von Gemüsejungpflanzen.

- ☐ Trays ☒ Anzucht allgemein, Presstöpfe ☐ Growbag ☐ Kübel ☐ Ampel ☐ Pflanzerde ☐ Rasen
☐ Topfen, Topfgröße: ☐ 7-9 cm ☐ 8-11 cm ☐ 8-14 cm ☐ >12 cm ☐ Cont. >1 l ☐ Cont. >3 l ☐ kundenspezifisch

Technische Daten:

Zusammensetzung



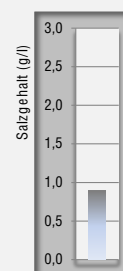
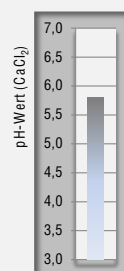
- ☐ enthält Netzmittel (Instant Plus) ☐ enthält Ton ☐ enthält Sand

Chemische Eigenschaften (zum Zeitpunkt der Herstellung)

pH-Wert * (CaCl ₂)	5,8
Salzgehalt * (g/l)	0,9
N-Stickstoff * (CaCl ₂)	190 mg/l
P ₂ O ₅ -Phosphat * (CAL)	270 mg/l
K ₂ O-Kallium * (CAL)	420 mg/l
Struktur	fein

Dem Substrat wurden Nährstoffe org.-min. Form zugeführt.

- ☐ enthält Langzeitdünger



* Schwankungsbreite gemäß Gütebestimmungen für Substrate der Gütegemeinschaft Substrate für Pflanzen e.V.

Ausgangsstoffe und Zusätze

Wirkung im Substrat

Stark zersetzter Hochmoortorf (Schwarztorf)	erhöht die Wasserspeicherefähigkeit und verbessert die Wasseraufnahme
Wenig bis mäßig zersetzter Hochmoortorf (Weißtorf)	erhöht die Luftkapazität und verbessert die Strukturstabilität
Gütesicherter Grünschnittkompost	trägt zur Nährstoffversorgung der Pflanzen bei, belebt das Substrat und sorgt für eine optimale Wasseraufnahme
Kohlensäurer Kalk	stimmt den pH-Wert optimal auf die jeweiligen Pflanzenbedürfnisse ab
Flora Bio-Mix (Naturdünger)	sichert eine schnelle und naturgemäße Nährstoffversorgung und aktiviert das Bodenleben
Organischer Dünger	versorgt die Pflanzen mit organisch gebundenem Stickstoff

Hinweise:

Produkt möglichst trocken und kühl sowie geschützt vor direkter Sonneneinstrahlung lagern. Wir empfehlen, das Produkt möglichst schnell zu verarbeiten. Bei längerer Lagerung sollte vor der Verwendung eine Substratanalyse durchgeführt werden. Die Ausgangsstoffe und Zusätze des Produktes entsprechen der Verordnung (EG) Nr. 834/2007 über die ökologische/biologische Produktion mit ihrer Ausführungs-Verordnung (EG) Nr. 889/2008. Das Produkt ist RAL-gütesicher nach den Gütebestimmungen der Gütegemeinschaft Substrate für Pflanzen e.V.. Bei Fragen zum Produkt treten Sie gern in Kontakt zu Ihrem Vertriebsmitarbeiter oder zur Fachabteilung der Firma Floragard unter Tel. +49 441 2092-0.

Anhang 3 - Substratanalysen

Beratungsdienst Bodenlabor JardinSuisse
5000 Aarau - 044 388 53 36



Kunde: ZHAW
8820 Wädenswil

Probenbezeichnung: **Substrat 2**

Probeneingang: 21.12.2020

Probenausgang: 23.12.2020

Messergebnisse

	Messwerte	Beurteilung tief mässig normal erhöht hoch	Stufe	Richtwerte von bis
pH-Wert	6.8	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	3.75	6.0 7.0
Leitfähigkeit in Millisiemens	1.1	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	4	0.5 1.1

Nährstoffe	Messwerte in Millimol/l Extrakt	Beurteilung tief mässig normal erhöht hoch	Stufe	Richtwerte von bis
Nitratstickstoff (N in NO ₃)	7.7	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	4.5	2.6 5.3
Ammoniumstickstoff (N in NH ₄)	0.0	■■	1	0.5 1.1
Phosphor	0.3	■■■■■■■	2	0.5 1.1
Kalium	3.8	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	3.75	2.2 4.4
Magnesium	1.4	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	5	0.4 0.9
Calcium	2.9	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	4.25	1.3 2.3

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1.5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1.5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Die gemessenen Nährstoffe entsprechen annähernd folgenden Gehalten in mg pro Liter Substrat

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	216	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	41	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	356	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	69	mg Mg / l Substrat

Empfehlung/Bemerkung

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.



JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Jardin Suisse
Unternehmerverband Gärtner Schweiz
Associazione svizzera imprenditori giardinieri
Association suisse des entreprises horticoles

Kunde: ZHAW
8820 Wädenswil
Probenbezeichnung: **100% Food from Wood**
Probeneingang: 21.12.2020
Probenausgang: 23.12.2020

Messergebnisse

[illegible][illegible]

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1,5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1,5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Die gemessenen Nährstoffe entsprechen annähernd folgenden Gehalten in mg pro Liter Substrat

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	nn	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	1'311	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	1'036	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	41	mg Mg / l Substrat

Empfehlung/Bemerkung

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.



JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Jardin Suisse
Unternehmerverband Gärtner Schweiz
Associazione svizzera imprenditori giardinieri
Association suisse des entreprises horticoles

Kunde: ZHAW
8820 Wädenswil

Probenbezeichnung: **20% Food from Wood**

Probeneingang: 21.12.2020

Probenausgang: 23.12.2020

Messergebnisse

	Messwerte	Beurteilung tief mässig normal erhöht hoch	Stufe	Richtwerte von bis
pH-Wert	6.5	■■■■■■■■■■■■■■■	3.5	6.0 7.0
Leitfähigkeit in Millisiemens	1.0	■■■■■■■■■■■■■■■	3.75	0.5 1.1

Nährstoffe	Messwerte in Millimol/l Extrakt	Beurteilung tief mässig normal erhöht hoch	Stufe	Richtwerte von bis	
Nitratstickstoff (N in NO ₃)	6.2	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	4.25	2.6	5.3
Ammoniumstickstoff (N in NH ₄)	0.4	■■■■■■■■■■	2.5	0.5	1.1
Phosphor	1.2	■■■■■■■■■■■■■■■■■	4	0.5	1.1
Kalium	5.3	■■■■■■■■■■■■■■■■■	4.25	2.2	4.4
Magnesium	1.3	■■■■■■■■■■■■■■■■■■■	4.75	0.4	0.9
Calcium	1.9	■■■■■■■■■■■■■■■	3.5	1.3	2.3

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1.5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1.5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Die gemessenen Nährstoffe entsprechen annähernd folgenden Gehalten in mg pro Liter Substrat

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	173	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	170	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	501	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	66	mg Mg / l Substrat

Empfehlung/Bemerkung

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.



JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Jardin Suisse
Unternehmensverband Gärtner Schweiz
Associazione svizzera imprenditori giardinieri
Association suisse des entreprises horticoles

Kunde: ZHAW
8820 Wädenswil

Probenbezeichnung: **100% Tenebrio**

Probeneingang: 21.12.2020

Probenausgang: 24.12.2020

Messergebnisse

[illegible][illegible]

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1.5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1.5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Die gemessenen Nährstoffe entsprechen annähernd folgenden Gehalten in mg pro Liter Substrat

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	13	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	19'381	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	9'950	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	596	mg Mg / l Substrat

Empfehlung/Bemerkung

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.



JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Jardin Suisse
Unternehmerverband Gärtner Schweiz
Associazione svizzera imprenditori giardinieri
Association suisse des entreprises horticoles

Messergebnisse

[illegible]

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1,5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1,5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	15	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	3'211	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	2'151	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	289	mg Mg / l Substrat

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

HIER WÄCHST
ZUKUNFT

JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Jardin Suisse
Unternehmerverband Gärtner Schweiz
Associazione svizzera imprenditori giardinieri
Association suisse des entreprises horticoles

Messergebnisse

[illegible]

Messmethoden: pH, N, Mg, Ca im 1:1,5 Vol-Extrakt (H₂O); P, K und Spurenelemente im 1:1,5 Vol-Extrakt (NH₄-EDTA)

Nitratstickstoff (N in NO ₃)	22	mg N / l Substrat
Phosphorpentoxid	9'600	mg P ₂ O ₅ / l Substrat
Kaliumoxid	9'419	mg K ₂ O / l Substrat
Magnesium	36	mg Mg / l Substrat

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

Wünschen Sie eine Beratung, rufen Sie bitte Herrn Poffet an.

**HIER WÄCHST
ZUKUNFT**

JardinSuisse Bahnhofstrasse 94 5000 Aarau Telefon 044 388 53 00 Fax 044 388 53 40
info@jardinsuisse.ch www.jardinsuisse.ch

Anhang 4 - Trianum-P WDG – *Trichoderma harzianum*



LABEL TEXT SWITZERLAND
(CONCEPT)



TRIANUM-P WDG *Trichoderma harzianum* T-22

DÜNGER / KULTUR VON MIKROORGANISMEN ZUR BEHANDLUNG VON BÖDEN, SAATGUT ODER PFLANZEN

Verbessert die Nährstoffaufnahme und fördert das Wurzelwachstum.

Verwendung beim Anbau von Gemüse, Beeren, Kräuter, Blumenzwiebeln, Zierpflanzen und Stauden.


INHALTSSTOFFE

Trichoderma harzianum Stamm T-22
Inaktive Inhaltsstoffe

1.15 % w/w
98.85 % w/w

Trichoderma harzianum Stamm T-22

1,0x10⁹ Sporen/g

 REIZEND	REIZT DIE AUGEN UND DIE ATMUNGSORGANE. SENSIBILISIERUNG DURCH HAUTKONTAKT MÖGLICH.
	DARF NICHT IN DIE HÄNDE VON KINDERN GELANGEN. VON NAHRUNGSMITTELN, GETRÄNKEN UND FUTTERMITTELN FERNHALTEN. BEI DER ARBEIT NICHT ESSEN, TRINKEN, RAUCHEN. BEI DER ARBEIT GEEIGNETE SCHUTZKLEIDUNG, SCHUTZHANDSCHUHE UND SCHUTZBRILLE TRAGEN. WÄHREND DEM ÖFFNEN DER PACKUNG UND DEM MISCHEN DER SPRITZBRÜHE GEEIGNETES ATEMschutzGERÄT ANLEGEN (FILTERMASKE TYP P3).

Inhalt: 500 g Wasserdispergierbares Granulat (WDG)

Produktnummer:

Batch Code: s. o.

LAGERUNG

Kühl lagern bei einer Temperatur von 8-10°C

UNSCHÄDLICHMACHUNG / ENTSORGUNG

Restmengenverwertung: Eventuell auftretende Reste von Giessbrühen und aus der Gerätereinigung auf der zuvor behandelten Fläche ausbringen. Mittelreste können auf dem Mist oder Kompost entsorgt oder dem Hausmüll übergeben werden.

Leere Gebinde gründlich reinigen und der Kehrlichtabfuhr übergeben.

Kann bei nicht fachgerechter Verwendung die Fruchtbarkeit des Bodens gefährden, den Zustand der Gewässer und der Luft beeinträchtigen oder die Qualität der Pflanzen nachteilig beeinflussen.

Darf nicht verwendet werden in Naturschutz- und Riedgebieten und Mooren; in Hecken, Feldgehölzen und im Wald (inkl. je 3 m Schutzstreifen); in und entlang von Oberflächengewässern (3 m Schutzstreifen) und in der Zone S1 von Grundwasserschutz zonen (Fassungsbereich).

TRIANUM-P WDG ist eine Handelsmarke von Koppert B.V., P.O. Box 155, 2650 AD Berkel en Rodenrijs, Die Niederlande.

TRIANUM-P WDG wird hergestellt von BioWorks Inc., Fairport, NY, USA.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Allgemeine Informationen

TRIANUM-P WDG steigert die Widerstandsfähigkeit von Pflanzen gegenüber der Belastung durch Krankheiten, nicht optimaler Düngung, Bewässerung und Klimaverhältnissen und fördert die Nährstoffaufnahme. Dies kann sowohl das Wachstum und die Entwicklung der Wurzeln als auch der oberen Pflanzenteile verbessern.

Verwendung beim Anbau von Gemüse, Beerenobst, Kräutern, Blumenzwiebeln, Zierpflanzen, Rasen und Baumschule (sowohl im Glashaus als auch im Freiland). TRIANUM-P WDG entwickelt sich unter den verschiedensten Umweltbedingungen (Temperaturbereich (10–34°C), pH-Wert von 4–8, in vielen unterschiedlichen Kultursubstraten und an den Wurzeln von verschiedensten Kulturen)

Um einen optimalen Erfolg zu erzielen, soll die Anwendung von TRIANUM- P WDG möglichst früh erfolgen.

SPRITZBRÜHEHERSTELLUNG

Giessanwendung

- Lösen Sie TRIANUM-WDG im Verhältnis 1:5 in Wasser auf.
- Gut durchmischen.
- Suspension der gewünschten Giessbrühmenge beifügen.
- Giessbrühe ständig rühren (damit wird das Absinken der Sporen verhindert).
- Giessbrühe sofort anwenden.

Anwendung über das Bewässerungssystem

- Lösen Sie TRIANUM-WDG im Verhältnis 1:5 in Wasser auf.
- Gut durchmischen
- Suspension in die Bewässerungsanlage einspeisen (nach einem allfälligen Sandfilter)
- Die üblichen Filter sollten sauber sein (Sporen von TRIANUM-WDG bleiben sonst an den organischen Teilen im Filter haften)
- Vermeiden Sie in den zwei Tagen nach der Applikation eine starke Drainage.

ANWENDUNG UND DOSIERUNG

Verwenden Sie eine ausreichende Menge der Suspension, um eine völlige Durchdringung des Wachstumssubstrats und des Bodens zu gewährleisten, vermeiden Sie jedoch ein Durchfließen der Lösung. Normalerweise benötigt man dazu ca. 2,5-5 l Wasser pro m² oder 1 dl pro Pflanze. Die Sporen von TRIANUM-WDG sollten möglichst schnell mit den Wurzeln in Kontakt kommen.

Die Spritzbrühe kann auf kleinen Flächen mit der Spritzkanne, auf grösseren Flächen auch mit einem speziellen Schlauch-Aufsatz (z.B. AquaNemix 2% von BIRCHMEIER erhältlich bei Andermatt Biocontrol AG) oder der Pflanzenschutzspritze ausgebracht werden.

In der Vermehrungsphase

1,5 g TRIANUM-WDG /m² auf der zu behandelnden Fläche (aufgelöst in 2,5 – 5 l Wasser) unmittelbar nach dem Säen oder Pflanzen der Stecklinge (bewurzelt oder unbewurzelt) ausbringen

Erdkulturen mit hoher Pflanzdichte (Gemüse [z.B. Salat, Kohlgewächse], Kräuter, Blumenzwiebeln, Zierpflanzen)

TRIANUM-P WDG sollte unmittelbar nach dem Pflanzen, mit einer Aufwandmenge von 3,0 g/m² auf die zu behandelnde Fläche gegossen werden. Bei Wiederholungen verwenden Sie nur die halbe Menge von TRIANUM-P WDG (1,5 g/m²). Dies ist der Fall wenn die Pflanzen bereits zu einem früheren Zeitpunkt behandelt wurden. Die Anwendung mit TRIANUM-P WDG sollte alle 10-12 Wochen wiederholt werden; Setzen Sie auch nach dem Umtopfen z.B. in einen größeren Behälter, die halbe Menge TRIANUM-P WDG ein.

Kulturen in Erde oder in Substraten in Reihenpflanzungen oder bei niedriger Pflanzendichte (Gemüse [z.B. Tomaten, Gurken], Beerenobst, Zierpflanzen und Baumschule)

TRIANUM-P WDG unmittelbar nach der Pflanzung anwenden – Aufwandmenge: 30 g/1.000 Töpfe/Pflanzen oder max. 7 kg / ha).

Die Anwendung mit TRIANUM-P WDG sollte alle 10-12 Wochen wiederholt werden. Verwenden Sie dazu die halbe Menge: 15 g / 1.000 Töpfe/Pflanzen oder max. 3,5 kg /ha.

Rasen

TRIANUM-P WDG anwenden, sobald die Bodentemperatur 8° C überschreitet. TRIANUM-P WDG zweimal (im Intervall von einem Monat) mit einer Menge von 45 g/100 m² zu Beginn des Frühlings anwenden. Um eine kontinuierliche Versorgung mit TRIANUM-WDG im Wurzelbereich zu gewährleisten, sind monatliche Anwendungen im Sommer und Herbst mit einer Menge von 15 g/100 m² (fairways/tees) oder 30 g/100m² (greens) empfohlen. Die letzte Anwendung sollte im Herbst vier Wochen vor der Winterruhe erfolgen.

Wird das Aussäen mit Grassamen wiederholt, dann sollte TRIANUM-P WDG in folgendem Verhältnis mit dem Grassamen vermischt werden: 125g TRIANUM-P WDG zu 50 kg Grassamen.

MISCHBARKHEIT

TRIANUM-P WDG niemals mit anderen Produkten in einem Tank mischen! Getrennt appliziert ist TRIANUM-P WDG kompatibel jedoch mit den meisten Fungiziden, Flüssigdüngern und Insektiziden/Akariziden. Vermeiden Sie kurz vor und zwei Tage nach der Applikation die Anwendung von Desinfektionsmitteln. Auf die Verwendung von Javelwasser (Na-Hypochlorit) ist gänzlich zu verzichten.

Genaue Beratung über spezielle Kombinationsmöglichkeiten erhalten Sie bei Ihrem Berater.



Anhang 5 - Chitinase Assay Kit

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757
email: techservice@sial.com sigma-aldrich.com

Product Information

Chitinase Assay Kit

Catalog Number **CS0980**

Storage Temperature 2–8 °C

TECHNICAL BULLETIN

Product Description

Chitinase catalyzes the hydrolytic cleavage of the $\beta(1\rightarrow4)$ -glycoside bonds present in biopolymers of N-acetylglucosamine, primarily in chitin. Chitinases are widely distributed in living organisms and are found in fungi, bacteria, parasites, plants, and animals.¹ They are classified in families based on amino acid sequence similarities.²

The chitinolytic enzymes are also categorized based on their enzymatic action on chitin substrates. Endochitinases are defined as the enzymes catalyzing the random cleavage at internal points in the chitin chain. Exochitinases catalyze the progressive release of acetylchitobiose or N-acetylglucosamine from the non-reducing end of chitin, and thus, are referred to as chitobiosidase and β -N-acetylglucosaminidase, respectively.^{3,4}

Chitinases perform different functions in different organisms. In bacteria they are mainly involved in nutritional processes, while in yeast and various fungi, these enzymes participate in morphogenesis. In animals and plants, chitinases primarily play a role in the defense of the organism against pathogen attack.

Human chitotriosidase (Chit), a chitinolytic enzyme, is a member of the chitinase family. In human plasma, Chit activity has been proposed as a biological marker of macrophage activity in several lysosomal diseases, and was found at higher levels in patients with *Plasmodium falciparum* malaria infection. This suggests that Chit induction may reflect an immunological response.⁵

Another member of the chitinase family is the acid mammalian chitinase (AMCase), thought to play a role in inflammatory disorders. Elevated levels of AMCase were observed in lung tissue of asthmatic patients, suggesting a role for this enzyme in asthma pathophysiology.⁶

The kit assay is based on the enzymatic hydrolysis of chitinase substrates. This hydrolysis releases *p*-nitrophenol (4-nitrophenol), which upon ionization in basic pH, can be measured colorimetrically at 405 nm.⁷

The Chitinase Assay Kit provides all the reagents required for efficient detection of chitinase activity in fungal and bacterial growth media, macrophage lysates, and purified enzyme preparations. In addition, the kit provides three different substrates for the detection of the various types of the chitinolytic activity:³

4-Nitrophenyl N,N'-diacetyl- β -D-chitobioside – a substrate suitable for exochitinase activity detection (chitobiosidase activity)

4-Nitrophenyl N-acetyl- β -D-glucosaminide – a substrate suitable for exochitinase activity detection (β -N-acetylglucosaminidase activity)

4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-triacetylchitotriose – a substrate suitable for endochitinase activity detection

The kit was tested on *Trichoderma viride*, *Streptomyces griseus*, and human macrophages.

Components

Assay Buffer	20 ml
Catalog Number A4855	
4-Nitrophenyl N-acetyl- β -D-glucosaminide	10 mg
Catalog Number N9376	
4-Nitrophenyl N,N'-diacetyl- β -D-chitobioside	5 mg
Catalog Number N6133	

4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-triacetylchitotriose Catalog Number N8638	1 mg
Chitinase from <i>Trichoderma viride</i> Catalog Number C6242	1 mg
p-Nitrophenol Solution, 10 mM Catalog Number N7660	1 ml
Sodium Carbonate Catalog Number S2127	1 g

The kit is sufficient for the number of multiwell plate reactions indicated for each substrate:

Catalog Number N9376 at a substrate concentration of 1 mg/ml is sufficient for 100 reactions.

Catalog Number N6133 at a substrate concentration of 1 mg/ml is sufficient for 50 reactions.

Catalog Number N8638 at a substrate concentration of 1 mg/ml is sufficient for 10 reactions.

Note: For other substrate concentrations see Substrate Solution(s) Notes under Preparation Instructions.

Reagents and Equipment Required but Not Provided

- Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS, Catalog Number D8537)
- Ultrapure water
- Spectrophotometer or ELISA reader (405 nm)
- 96 well plates (flat bottom, Catalog Number P7366)
- 37 °C water bath
- For macrophages lysis: CellLytic™ M Cell Lysis Reagent (Catalog Number C2978).

Precautions and Disclaimer

This product is for R&D use only, not for drug, household, or other uses. Please consult the Material Safety Data Sheet for information regarding hazards and safe handling practices.

Preparation Instructions

Use ultrapure water (17 M Ω -cm or equivalent) for preparation of reagents.

Stop Solution (sodium carbonate solution) – Add 24 ml of ultrapure water to the contents of the sodium carbonate bottle (Catalog Number S2127) and mix well with a magnetic stirrer until completely dissolved. Store the Stop Solution at room temperature.

Substrate Solution(s) (1 mg/ml) – Dissolve 1 mg of the appropriate substrate in 1 ml of Assay Buffer (Catalog Number A4855):

4-Nitrophenyl N-acetyl- β -D-glucosaminide,
Catalog Number N9376, or

4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-triacetylchitotriose,
Catalog Number N8638 or

4-Nitrophenyl N,N'-diacetyl- β -D-chitobioside,
Catalog Number N6133

1 ml of Substrate Solution is sufficient for ~10 reactions. Mix the Substrate Solution(s) with rocking/shaking on a horizontal shaker at room temperature.

Notes: A 1 mg/ml substrate solution is recommended. If required, the 4-Nitrophenyl β -D-N,N',N''-triacetylchitotriose and the 4-Nitrophenyl N,N'-diacetyl- β -D-chitobioside Substrate Solutions can be used at lower concentrations in the reaction (0.5 or 0.2 mg/ml, respectively).

The substrates do not dissolve easily in the buffer. It may take ~1 hour of shaking to completely dissolve the substrates. Use of a larger container (15 ml) may aid dissolution. The Substrate Solution(s) should be stored on ice during the experiment. For long term storage, up to one month, store at -20 °C.

Chitinase Control Enzyme – Add 5 ml of PBS to the contents of the chitinase bottle (Catalog Number C6242) to give a final chitinase concentration of 0.2 mg/ml. Vortex until dissolved. The chitinase dissolves immediately to give a slightly hazy solution. For long term storage, store in working aliquots at -20 °C (stable for at least 3 months at -20 °C). Just before use, dilute the chitinase 20-fold with PBS and keep on ice.

Standard Solution – Before performing the assay in 96 well plates, dilute 5 μ l of the 10 mM p-Nitrophenol Solution (Catalog Number N7660) with 995 μ l of Stop Solution. Vortex briefly and store on ice.

Sample preparation – *Trichoderma viride* and *Streptomyces griseus* growth medium can be sampled directly from the growing culture (since the chitinase is secreted into the growth medium) and can be used in the assay after a brief centrifugation to remove particles from the medium. Human macrophage proteins can be extracted with CellLytic M Cell Lysis Reagent (Catalog Number C2978).

Storage/Stability

The kit is shipped on wet ice and storage at 2–8 °C is recommended. Upon arrival it is recommended to store the 4-Nitrophenyl N-acetyl-β-D-glucosaminide (Catalog Number N9378) and the Chitinase from *Trichoderma viride* (Catalog Number C6242) at –20 °C, and the Sodium Carbonate (Catalog Number S2127) at room temperature.

Procedure

The chitinase hydrolysis is performed in an acidic environment (pH 4.8) at 37 °C.⁶ The enzymatic hydrolysis liberates *p*-nitrophenol.⁸ Addition of the basic Stop Solution causes ionization of the *p*-nitrophenol to form the yellow *p*-nitrophenolate ion. The absorbance of the *p*-nitrophenolate ion is measured at 405 nm.³

In order to quantitate the total chitinolytic activity, separate reactions should be run with the three substrates supplied in the kit. Profiling of the chitinolytic enzymes can be determined after separation of the chitinolytic enzymes by SDS-PAGE, using an agarose overlay containing fluorescent substrates.^{3,9} Note that in crude preparations there may be additive/synergist activity of different chitinases.

It is recommended to perform the assays in duplicates. For each substrate, perform a separate activity assay according to the following instructions.

1. Equilibrate the Substrate Solution(s) and the Standard Solution to 37 °C by incubating for several minutes in a 37 °C water bath.
2. Set the plate reader at 405 nm.
3. Add the reaction components to the 96 well plate according to Table 1 and mix using a horizontal shaker or by pipetting. The substrate should be added first and the enzyme should be added last.

Table 1.

Reaction Scheme for 96 Well Plate Assays

	Substrate Solution	Sample	Standard Solution
Blank*	100 µl	–	–
Standard**	–	–	300 µl
Positive control***	90–99 µl	1–10 µl of Chitinase Control Enzyme	–
Test	90–99 µl	1–10 µl of sample	–

* A blank reaction (Substrate Solution without enzyme) should be run, since a portion of the substrate may hydrolyze spontaneously during the incubation time.

** A standard should be run when activity calculations are required.

*** The volume of the enzyme can range between 1–10 µl, depending on the reaction duration (i.e., for a shorter time a higher volume of the enzyme is required). The positive control enzyme is the 20-fold diluted enzyme. If required, the concentrated, non-diluted enzyme may be used.

4. Incubate the plate for 30 minutes at 37 °C. If required, the incubation time for highly active samples can be reduced to as low as 5 minutes.
5. Stop the reactions by adding 200 µl of Stop Solution to each well, except for the wells containing the Standard Solution. After the addition of the Stop Solution the reaction mixture will develop a yellow tint.
6. Measure the absorption at 405 nm no later than 30 minutes after ending the reaction.

Calculations

Unit definition: One unit will release 1.0 μ mole of *p*-nitrophenol from the appropriate substrate per minute at pH 4.8 at 37 °C.

$$\text{Units/ml} = \frac{(A_{405\text{sample}} - A_{405\text{blank}}) \times 0.05 \times 0.3 \times \text{DF}}{A_{405\text{standard}} \times \text{time} \times V_{\text{enz}}}$$

$A_{405\text{sample}}$ – absorbance of the sample at 405 nm

$A_{405\text{blank}}$ – absorbance of the blank at 405 nm

0.05 – μ mole/ml of *p*-nitrophenol in the Standard Solution

0.3 – final volume of the 96 well plate reaction after addition of the Stop Solution (ml)

DF - Dilution Factor - fold dilution of the original chitinase enzyme or biological solution to prepare sample for the test

$A_{405\text{standard}}$ – absorbance of the Standard Solution at 405 nm

time – minutes

V_{enz} – volume of the sample (ml)

References

1. Kasprzewska, A., Plant Chitinases - Regulation and Function. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **8**, 809-824 (2003).
2. Henrrisat, B., New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J.*, **280**, 309-316 (1991).
3. Tronsmo, A., and Harman, G.E., Detection and quantification of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, chitobiosidase, and endochitinase in solutions and on gels. *Anal. Biochem.*, **208**, 74-79 (1993).
4. Sahai, A.S., and Manocha, M.S., Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction. *FEMS Microbiol. Rev.*, **11**, 317-338 (1993).
5. Malaguamera, L., *et al.*, Interferon- γ , tumor necrosis factor- α , and lipopolysaccharide promote chitotriosidase gene expression in human macrophages. *J. Clin. Lab. Anal.*, **19**, 128-132 (2005).
6. Donnelly, L.E., and Barnes, P.J., Acidic mammalian chitinase - a potential target for asthma therapy. *Trends Pharmacol. Sci.*, **25**, 509-511 (2004).
7. Duo-Chuan, L.I., *et al.*, Purification and partial characterization of two chitinases from the mycoparasitic fungus *Talaromyces flavus*. *Mycopathologia*, **159**, 223-229 (2005).
8. Frandberg, E., and Schnurer, J., Evaluation of chromogenic chito-oligosaccharide analogue, *p*-nitrophenyl- β -D-N,N'-diacetylchitobiose, for the measurements of the chitinolytic activity of bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, **76**, 259-263 (1994).
9. Chernin, L.S., *et al.*, Chitinolytic Activity in *Chromobacterium violaceum*: Substrate analysis and regulation by quorum sensing. *J. Bacteriol.*, **180**, 4435-4441 (1998).

CellLytic is a trademark of Sigma-Aldrich®
Biotechnology LP and Sigma-Aldrich Co.

KAA,ESS,EB,MAM 09/08-1

Anhang 6 - Bestimmung des pH- und EC-Werts von Substrat

Referenzmethoden der Eidg. landwirtschaftlichen Forschungsanstalten		
Band 1: Bodenuntersuchung zur Düngeberatung	Code	H2OSU-Ex
	Einsatz-Bereich	Düngeberatung: Substrate
Volumenextraktion mit Wasser (1:1.5)		
Seite 1 von 2		

1. Prinzip

Durch die Volumenextraktion werden die in einem definierten, frischen Substratvolumen vorhandenen leicht löslichen Nährstoffe N, P, K, Mg und Ca nachgewiesen. Die Substratsuspension wird geschüttelt, um die Nährstoffe zu extrahieren und diese im Extrakt nachweisen zu können.

2. Durchführung

Apparaturen und Geräte:

- (A) Kunststoff-Flaschen mit Schraubverschluss, 500 ml, weithals, Ø ca. 75 mm, Höhe ohne Deckel ca. 150 mm
- (B) Schüttelmaschine:
Lineare Längsschüttelmaschine, Amplitude (Hub) 50 mm, Schüttelgeschwindigkeit 120 U/Min., Flaschen längs in Schüttelrichtung liegend
- (C) Trichter (Ø 100 mm)
- (D) Faltenfilter (Schleicher & Schuell, 790½, Ø 185 mm)
- (E) Erlenmeyer, 250 ml
- (F) Messzylinder 250 ml (hohe Form)
- (G) Substratpresse mit einem Pressvolumen von 133 cm³ (nach Zeichnung)

Reagenzien:

- (1) Demineralisiertes Wasser (H₂O, Leitfähigkeit <5 µS/cm)

Arbeitsvorschrift:

Mit der Substratpresse (G) werden 133 cm³ frisches, gesiebtes Substrat vorbereitet und anschliessend in die Extraktionsflaschen gegeben.
In die vorbereiteten Flaschen wird mit Hilfe des Messzylinders (F) 200 ml H₂O (1) gegeben.
Die verschlossenen Flaschen werden während 1 Stunde auf der Schüttelmaschine (B) geschüttelt.
Anschliessend wird die Bodensuspension durch den Faltenfilter (D) während 2 Stunden in das Auffanggefäss (E) abfiltriert.

Im klaren Filtrat werden Leitfähigkeit (Salzgehalt), Nitrat, Ammonium, P, K, Mg, Ca bestimmt. Die Bestimmungen sind am gleichen Tag wie die Extraktion durchzuführen.

Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgt direkt in der aufgerührten Suspension. Für die übrigen Analysen wird das klare Filtrat verwendet.

3. Bemerkungen

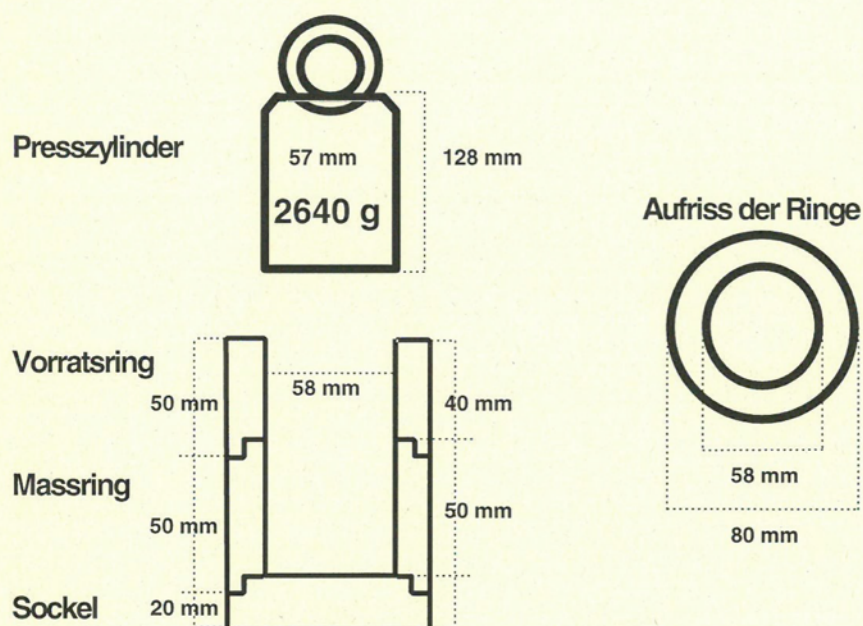
Probenahme und Probenaufbereitung erfolgen gemäss den dem Einsatzbereich entsprechenden Referenzmethoden.

Methode erstellt		Überarbeitet		Geprüft und freigegeben		Revisionsstand	
am	durch	am		am	durch	Version	ersetzt Version
13.01.95	RAC / Ry	27.11.95		25.01.96	FAL, FAW, RAC	01.02.96	Jan. 95

© Eidg. Forschungsanstalten FAL, FAW, RAC / E.056.d

Referenzmethoden der Eidg. landwirtschaftlichen Forschungsanstalten		
Band 1: Bodenuntersuchung zur Düngeberatung	Code	H2OSU-Ex
	Einsatz-Bereich	Düngeberatung: Substrate
Volumenextraktion mit Wasser (1:1.5)		Seite 2 von 2

Dimensionierung der Volumenpresse für die Wasserextraktion (1:1.5) von Substraten.



Gesamthöhe des Zylinders	90 mm
Höhe des Massringes	50 mm
Höhe des Vorratsringes	40 mm
Lichte Weite der Ringe	58 mm
Höhe des Presszylinders	128 mm
Durchmesser des Presszylinders	57 mm
Masse des Presszylinders	2640 g

Methode erstellt		Überarbeitet	Geprüft und freigegeben		Revisionsstand	
am	durch	am	am	durch	Version	ersetzt Version
13.01.95	RAC / Ry	27.11.95	25.01.96	FAL, FAW, RAC	01.02.96	Jan. 95

Anhang 7 – Plagiatserklärung

Erklärung betreffend das selbstständige Verfassen einer Masterarbeit im Departement Life Sciences und Facility Management

Mit der Abgabe dieser Masterarbeit versichert der/die Studierende, dass er/sie die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst hat.

Der/die unterzeichnende Studierende erklärt, dass alle verwendeten Quellen (auch Internetseiten) im Text oder Anhang korrekt ausgewiesen sind, d.h. dass die Masterarbeit keine Plagiate enthält, also keine Teile, die teilweise oder vollständig aus einem fremden Text oder einer fremden Arbeit unter Vorgabe der eigenen Urheberschaft bzw. ohne Quellenangabe übernommen worden sind.

Bei Verfehlungen aller Art treten Paragraph 39 und Paragraph 40 der Rahmenprüfungsordnung für die Bachelor- und Masterstudiengänge an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften vom 29. Januar 2008 sowie die Bestimmungen der Disziplinarmaßnahmen der Hochschulordnung in Kraft.

Ort, Datum:

Unterschrift:

WIL. 10.02.2021

